

Europäisches
Patentamt

European Patent
Office

Office européen
des brevets

PCT/EP04/08624



Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten internationalen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the international patent application described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont conformes à la version initialement déposée de la demande de brevet international spécifiée à la page suivante.

Den Haag, den
The Hague,
La Haye, le

20. 09. 2004

Der Präsident des Europäischen Patentamts
Im Auftrag
For the President of the European Patent Office
Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

Mrs. H. Fränsz

Patentanmeldung Nr.
Patent application no.
Demande de brevet n°

PCT/EP 03/09107

BEST AVAILABLE COPY

Blatt 2 der Bescheinigung
Sheet 2 of the certificate
Page 2 de l'attestation

Anmeldung Nr.:
Application no.:
Demande n°:

PCT/EP 03/09107

Anmelder:
Applicant(s):
Demandeur(s):

1. SUNGENE GMBH & CO. KGAA - Gatersleben, Deutschland
2. SCHOPFER, Christel Renate - Quedlinburg, Deutschland (nur US)
3. FLACHMAN, Ralf - Quedlinburg, Deutschland (nur US)

Bezeichnung der Erfindung:

Title of the invention:

Titre de l'invention:

Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in Früchten von Pflazen

Anmeldetag:

Date of filing:

Date de dépôt:

18. August 2003 (18.08.2003)

In Anspruch genommene Priorität(en)

Priority(ies) claimed

Priorité(s) revendiquée(s)

Land: Deutschland
State:
Pays:

Tag: 13. November 2002
Date:
Date: (13.11.2002)

Aktenzeichen: 10253112.9
File no.
Numéro de dépôt:

Benennung von Vertragsstaaten : Siehe Formblatt PCT/RO/101 (beigefügt)

Designation of contracting states : See Form PCT/RO/101 (enclosed)

Désignation d'états contractants : Voir Formulaire PCT/RO/101 (ci-joint)

Bemerkungen:

Remarks:

Remarques:

Weitere Anmelder:

4. HERBERS, Karin - Quedlinburg, Deutschland (nur US)
5. KUNZE, Irene - Gatersleben, Deutschland (nur US)
6. SAUER, Matt - Quedlinburg, Deutschland (nur US)
7. KLEBSATTEL, Martin - Quedlinburg, Deutschland (nur US)

Weitere Prioritätsansprüche:

Deutschland

16. Dezember 2002
(16.12.2002)

10258971.2

Weitere Prioritätsansprüche:

Deutschland	20. August 2002 (20.08.2002)	10238980.2
Deutschland	20. August 2002 (20.08.2002)	10238978.0
Deutschland	20. August 2002 (20.08.2002)	10238979.9

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG) - gedruckt am 06.08.2003 11:57:52 AM

IV-1	Anwalt oder gemeinsamer Vertreter; oder besondere Zustellanschrift Die unten bezeichnete Person ist/wird hiermit bestellt, um den (die) Anmelder vor den internationalen Behörden zu vertreten, und zwar als:	Anwalt
IV-1-1	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	DÖRPER, Thomas
IV-1-2	Anschrift:	c/o BASF Aktiengesellschaft D-67056 Ludwigshafen Deutschland
IV-1-3	Telefonnr.	0621/60-73919
IV-1-4	Telefaxnr.	0621/60-43123
V	Bestimmung von Staaten	
V-1	Regionales Patent (andere Schutzrechtsarten oder Verfahren sind ggf. in Klammern nach der (den) betreffenden Bestimmung(en) angegeben)	AP: GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZM ZW und jeder weitere Staat, der Mitgliedstaat des Harare-Protokolls und Vertragsstaat des PCT ist EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM und jeder weitere Staat, der Mitgliedsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und Vertragsstaat des PCT ist EP: AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR und jeder weitere Staat, der Mitgliedsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und Vertragsstaat des PCT ist OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG und jeder weitere Staat, der Mitgliedstaat der OAPI und Vertragsstaat des PCT ist
V-2	Nationales Patent (andere Schutzrechtsarten oder Verfahren sind ggf. in Klammern nach der (den) betreffenden Bestimmung(en) angegeben)	AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ DE DK DM DZ EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NI NO NZ OM PG PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK SL SY TJ TM TN TR TT TZ UA UG US UZ VC VN YU ZA ZM ZW

Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in Früchten von Pflanzen

5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten Pflanzen, die in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweisen, die-
10 genetisch veränderten Pflanzen, sowie deren Verwendung als Nahrungs- oder Futtermittel und zur Herstellung von Ketocarotinoidextrakten.

Carotinoide werden de novo in Bakterien, Algen, Pilzen und Pflanz-
15 en synthetisiert. Ketocarotinoide, also Carotinoide, die mindestens eine Keto-Gruppe enthalten, wie beispielsweise Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin oder Adonixanthin sind natürliche Antioxidantien und Pigmente, die von einigen Algen und Mikroorganismen
20 als Sekundärmetabolite produziert werden.

Aufgrund ihrer farbgebenden Eigenschaften werden die Ketocarotinoide und insbesondere Astaxanthin als Pigmentierhilfsstoffe in der Tierernährung, insbesondere in der Forellen-, Lachs- und
25 Shrimpszucht verwendet.

Die Herstellung von Astaxanthin erfolgt heutzutage größtenteils durch chemische Syntheseverfahren. Natürliche Ketocarotinoide, wie beispielsweise natürliches Astaxanthin, werden heutzutage in
30 biotechnologischen Verfahren in kleinen Mengen durch Kultivierung von Algen, beispielsweise Haematococcus pluvialis, oder durch Fermentation von gentechnologisch optimierten Mikroorganismen und anschließender Isolierung gewonnen.

35 Ein wirtschaftliches biotechnologisches Verfahren zur Herstellung von natürlichen Ketocarotinoiden ist daher von großer Bedeutung.

WO 98/18910 beschreibt die Synthese von Ketocarotinoiden in Nektarien von Tabakblüten durch Einbringen eines Ketolase-Gens
40 in Tabak.

WO 01/20011 beschreibt ein DNA Konstrukt zur Produktion von Ketocarotinoiden, insbesondere Astaxanthin, in Samen von Ölsaatpflanzen wie Raps, Sonnenblume, Sojabohne und Senf unter Verwendung
45 eines Samen-spezifischen Promotors und einer Ketolase aus Haematococcus.

2

Die im Stand der Technik offenbarten Verfahren liefern zwar genetisch veränderte Pflanzen, die in spezifischen Geweben einen Gehalt an Ketocarotinoiden aufweisen, weisen jedoch den Nachteil auf, dass die Höhe des Gehalts an Ketocarotinoiden und die Reinheit, insbesondere an Astaxanthin, noch nicht zufriedenstellend ist.

Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein alternatives Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von Pflanzen zur Verfügung zu stellen, bzw. weitere transgene Pflanzen, die Ketocarotinoide herstellen, zur Verfügung zu stellen, die optimierte Eigenschaften, wie beispielsweise einen höheren Gehalt an Ketocarotinoiden, aufweisen und den geschilderten Nachteil des Standes der Technik nicht aufweisen.

Demgemäß wurde ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden gefunden, indem man genetisch veränderte Pflanzen kultiviert, die in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweisen.

Unter Ketolase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Ketolase verstanden.

Unter einer Ketolase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, am, gegebenenfalls substituierten, β -Ionon-Ring von Carotinoiden eine Keto-Gruppe einzuführen.

Insbesondere wird unter einer Ketolase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, β -Carotin in Canthaxanthin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter Ketolase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Ketolase umgesetzte Menge β -Carotin bzw. gebildete Menge Canthaxanthin verstanden.

Um in den Früchten der genetisch veränderten Pflanzen eine Ketolaseaktivität aufzuweisen, werden in einer bevorzugten Ausführungsform genetisch veränderte Pflanzen verwendet, die in Früchten eine Ketolase exprimieren.

Vorzugsweise werden daher im erfindungsgemäßen Verfahren genetisch veränderte Pflanzen verwendet, die in Früchten mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, enthalten.

Es sind keine Pflanzen bekannt, die als Wildtyp in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweisen. Insbesondere weisen die nachstehend beschriebenen, bevorzugten Pflanzen in Früchten als Wildtyp keine Ketolase-Aktivität auf.

5

In der vorliegenden Erfindung wird die Ketolase-Aktivität in Früchten der genetisch veränderten Pflanzen durch die genetische Veränderung der Ausgangspflanze verursacht. Die erfindungsgemäße genetisch veränderte Pflanze weist somit, im Vergleich
10 zur genetisch nicht veränderten Ausgangspflanze eine Ketolase-Aktivität in Früchten auf und ist somit vorzugsweise in der Lage, in Früchten eine Ketolase zu exprimieren.

Unter dem Begriff "Ausgangspflanze" oder "Wildtyp" wird die entsprechende nicht genetisch veränderte Ausgangspflanze verstanden.
15

Unter dem Begriff "genetisch veränderte Pflanze" wird vorzugsweise eine im Vergleich zur Ausgangspflanze genetisch veränderte Pflanze verstanden.

20

Je nach Zusammenhang kann unter dem Begriff "Pflanze" die Ausgangspflanze (Wildtyp) oder eine erfindungsgemäße, genetisch veränderte Pflanze oder beides verstanden werden.

25 Die Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, in den Früchten der Pflanzen erfolgt vorzugsweise durch Einbringen von Nukleinsäuren, die Ketolasen kodieren, in die Ausgangspflanze.

30 Die Erfindung betrifft daher insbesondere das vorstehend beschriebene Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Pflanzen verwendet, in die man ausgehend von einer Ausgangspflanze, mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, eingebracht hat.

35

Dazu kann prinzipiell jedes Ketolase-Gen, also jede Nukleinsäure die eine Ketolase kodiert, verwendet werden.

Alle in der Beschreibung erwähnten Nukleinsäuren können

40 beispielsweise eine RNA-, DNA- oder cDNA-Sequenz sein.

Bei genomischen Ketolase-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall, dass die Wirtspflanze nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden

45 kann, die entsprechenden Ketolase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs, zu verwenden.

Beispiele für Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, und die entsprechenden Ketolasen, die im erfindungsgemäßen Verfahren bzw. in den nachstehend beschriebenen erfindungsgemäßen genetisch veränderten Pflanzen verwendet werden können, sind beispielsweise
5 Sequenzen aus

Haematoccus pluvialis, insbesondere aus Haematoccus pluvialis Flotow em. Wille (Accession No. X86782; Nukleinsäure: SEQ ID No. 1, Protein SEQ ID No. 2),

10

Haematoccus pluvialis, NIES-144 (Accession No. D45881; Nukleinsäure: SEQ ID No. 3, Protein SEQ ID No. 4),

Agrobacterium aurantiacum (Accession No. D58420; Nukleinsäure: 15 SEQ. ID. No. 5, Protein SEQ ID No. 6),

Aliccaligenes spec. (Accession No. D58422; Nukleinsäure: SEQ ID No. 7, Protein SEQ ID No. 8),

20 Paracoccus marcusii (Accession No. Y15112; Nukleinsäure: SEQ ID No. 9, Protein SEQ ID No. 10).

Synechocystis sp. Strain PC6803 (Accession No. S76617, NP442491; Nukleinsäure: SEQ ID No. 11, Protein SEQ ID No. 12).

25

Bradyrhizobium sp. (Accession No. AF218415, BAB 74888; Nukleinsäure: SEQ ID No. 13, Protein SEQ ID No. 14).

Nostoc sp. Strain PCC7120 (Accession No. AP003592; Nukleinsäure: 30 SEQ ID No. 15, Protein SEQ ID No. 16).

Haematococcus pluvialis (Accession NO: AF534876, AAN03484; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 37, Protein: SEQ ID NO: 38)

35 Paracoccus sp. MBIC1143 (Accession NO: D58420, P54972; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 39, Protein: SEQ ID NO: 40)

Brevundimonas aurantiaca (Accession NO: AY166610, AAN86030; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 41, Protein: SEQ ID NO: 42)

40

Nodularia spumigena NSOR10 (Accession NO: AY210783, AAO64399; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 43, Protein: SEQ ID NO: 44)

Nostoc punctiforme ATCC 29133 (Accession NO: NZ_AABC01000195, 45 ZP_00111258; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 45, Protein: SEQ ID NO: 46)

Nostoc punctiforme ATCC 29133 (Accession NO: NZ_AABC01000196; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 47, Protein: SEQ ID NO: 48)

Deinococcus radiodurans R1 (Accession NO: E75561, AE001872; Nukleinsäure: SEQ ID NO: 49, Protein: SEQ ID NO: 50)

Weitere natürliche Beispiele für Ketolasen und Ketolase-Gene, die im erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden können, lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, durch Identitätsvergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit den vorstehend beschriebenen Sequenzen und insbesondere mit den Sequenzen SEQ ID NO. 2 und/oder SEQ ID NO. 16 leicht auffinden.

Weitere natürliche Beispiele für Ketolasen und Ketolase-Gene lassen sich weiterhin ausgehend von den vorstehend beschriebenen Nukleinsäuresequenzen, insbesondere ausgehend von den Sequenzen SEQ ID. No 1 und/oder SEQ ID NO. 15 aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, durch Hybridisierungstechniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.

Die Hybridisierung kann unter moderaten (geringe Stringenz) oder vorzugsweise unter stringenten (hohe Stringenz) Bedingungen erfolgen.

Solche Hybridisierungsbedingungen sind beispielsweise bei Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., in: Molecular Cloning (A Laboratory Manual), 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Seiten 9.31-9.57 oder in Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6 beschrieben.

Beispielhaft können die Bedingungen während des Waschschruttes ausgewählt sein aus dem Bereich von Bedingungen begrenzt von solchen mit geringer Stringenz (mit 2X SSC bei 50°C) und solchen mit hoher Stringenz (mit 0.2X SSC bei 50°C, bevorzugt bei 65°C) (20X SSC: 0,3 M Natriumcitrat, 3 M Natriumchlorid, pH 7.0).

Darüberhinaus kann die Temperatur während des Waschschruttes von moderaten Bedingungen bei Raumtemperatur, 22°C, bis zu stringenten Bedingungen bei 65°C angehoben werden.

Beide Parameter, Salzkonzentration und Temperatur, können gleichzeitig variiert werden, auch kann einer der beiden Parameter konstant gehalten und nur der andere variiert werden. Während der Hybridisierung können auch denaturierende Agenzien wie zum Bei-

spiel Formamid oder SDS eingesetzt werden. In Gegenwart von 50 % Formamid wird die Hybridisierung bevorzugt bei 42°C ausgeführt.

Einige beispielhafte Bedingungen für Hybridisierung und Waschs-
schritt sind infolge gegeben:

(1) Hybridisierungsbedingungen mit zum Beispiel

- 10 (i) 4X SSC bei 65°C, oder
- (ii) 6X SSC bei 45°C, oder
- 15 (iii) 6X SSC bei 68°C, 100 mg/ml denaturierter Fischsperma-DNA, oder
- (iv) 6X SSC, 0,5 % SDS, 100 mg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA bei 68°C, oder
- 20 (v) 6XSSC, 0,5 % SDS, 100 mg/ml denaturierte, fragmentierte Lachssperma-DNA, 50 % Formamid bei 42°C, oder
- (vi) 50 % Formamid, 4X SSC bei 42°C, oder
- 25 (vii) 50 % (vol/vol) Formamid, 0,1 % Rinderserumalbumin, 0,1 % Ficoll, 0,1 % Polyvinylpyrrolidon, 50 mM Natriumphosphatpuffer pH 6,5, 750 mM NaCl, 75 mM Natriumcitrat bei 42°C, oder
- 30 (viii) 2X oder 4X SSC bei 50°C (moderate Bedingungen), oder
- (ix) 30 bis 40 % Formamid, 2X oder 4X SSC bei 42° (moderate Bedingungen).

(2) Waschschrirte für jeweils 10 Minuten mit zum Beispiel

- 35 (i) 0,015 M NaCl/0,0015 M Natriumcitrat/0,1 % SDS bei 50°C, oder
- (ii) 0,1X SSC bei 65°C, oder
- 40 (iii) 0,1X SSC, 0.5 % SDS bei 68°C, oder
- (iv) 0,1X SSC, 0.5 % SDS, 50 % Formamid bei 42°C, oder
- 45 (v) 0,2X SSC, 0.1 % SDS bei 42°C, oder

(vi) 2X SSC bei 65°C (moderate Bedingungen).

In einer bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahrens bringt man Nukleinsäuren ein, die ein Protein kodieren, 5 enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 %, vorzugsweise mindestens 30 %, bevorzugter mindestens 40 %, bevorzugter mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 60 %, bevor- 10 zugter mindestens 70 %, bevorzugter mindestens 80 %, besonders bevorzugt mindestens 90 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO. 2 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

15 Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die wie vorstehend beschrieben durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO. 2 durch künstliche Variation, beispielsweise durch 20 Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahren bringt man man Nukleinsäuren ein, die ein Pro- 25 tein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO. 16 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 %, vorzugsweise mindestens 30 %, bevorzugter mindestens 40 %, bevorzugter mindestens 50 %, bevorzugter minde- 30 stens 60 %, bevorzugter mindestens 70 %, bevorzugter mindestens 80 %, besonders bevorzugt mindestens 90 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO. 16 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.

35 Dabei kann es sich um eine natürliche Ketolase-Sequenz handeln, die wie vorstehend beschrieben durch Identitätsvergleich der Sequenzen aus anderen Organismen gefunden werden kann oder um eine künstliche Ketolase-Sequenz die ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO. 16 durch künstliche Variation, beispielsweise durch 40 Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgewandelt wurde.

Unter dem Begriff "Substitution" ist in der Beschreibung der Austausch einer oder mehrerer Aminosäuren durch eine oder mehrere 45 Aminosäuren zu verstehen. Bevorzugt werden sog. konservative Austausche durchgeführt, bei denen die ersetzte Aminosäure eine ähnliche Eigenschaft hat wie die ursprüngliche Aminosäure,

beispielsweise Austausch von Glu durch Asp, Gln durch Asn, Val durch Ile, Leu durch Ile, Ser durch Thr.

Deletion ist das Ersetzen einer Aminosäure durch eine direkte
5 Bindung. Bevorzugte Positionen für Deletionen sind die Termini des Polypeptides und die Verknüpfungen zwischen den einzelnen Proteindomänen.

Insertionen sind Einfügungen von Aminosäuren in die Polypeptid-
10 kette, wobei formal eine direkte Bindung durch ein oder mehrere Aminosäuren ersetzt wird.

Unter Identität zwischen zwei Proteinen wird die Identität der Aminosäuren über die jeweils gesamte Proteinelänge verstanden,
15 insbesondere die Identität die durch Vergleich mit Hilfe der Lasergene Software der Firma DNASTAR, inc. Madison, Wisconsin (USA) unter Anwendung der Clustal Methode (Higgins DG, Sharp PM. Fast and sensitive multiple sequence alignments on a microcomputer. Comput Appl. Biosci. 1989 Apr;5(2):151-1) unter Einstellung
20 folgender Parameter berechnet wird:

Multiple alignment parameter:

	Gap penalty	10
25	Gap length penalty	10
	Pairwise alignment parameter:	
	K-tuple	1
	Gap penalty	3
	Window	5
30	Diagonals saved	5

Unter einem Protein, das eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO. 2 oder 16 aufweist, wird dementsprechend ein Protein verstanden, das bei einem
35 Vergleich seiner Sequenz mit der Sequenz SEQ ID NO. 2 oder 16, insbesondere nach obigen Programmalgorithmus mit obigem Parametersatz eine Identität von mindestens 20 % aufweist.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rück-
40 übersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

Bevorzugt werden dafür solche Kodons verwendet, die entsprechend der pflanzespezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die
45 codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO. 1, in den Pflanze ein.

- 5 In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO. 15, in den Pflanze ein.

- Alle vorstehend erwähnten Ketolase-Gene sind weiterhin in an sich
 10 bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Synthese von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoramidit-
 15 methode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen sowie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning:
 20 A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschrieben.

- In einer besonderes bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Verfahrens verwendet man genetisch veränderte Pflanzen,
 25 die in Früchten die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.

- Vorzugsweise wird dies dadurch erreicht, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines fruchtspezifischen Promotors
 30 erfolgt. Beispielsweise werden dazu die vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren, wie nachstehend ausführlich beschrieben, in einem Nukleinsäurekonstrukt, funktionell verknüpft mit einem fruchtspezifischen Promotor, in die Pflanze eingebracht.

- 35 Unter Pflanzen werden erfindungsgemäß vorzugsweise Pflanzen verstanden, die als Wildtyp in Früchten Chromoplasten aufweisen.

- Weiter bevorzugte Pflanzen weisen als Wildtyp in den Früchten zusätzlich Carotinoide, insbesondere β -Carotin, Zeaxanthin, Neo-
 40 xanthin, Violaxanthin oder Lutein auf.

Weiter bevorzugte Pflanzen weisen als Wildtyp in den Früchten zusätzlich eine Hydroxylase-Aktivität auf.

- 45 Unter Hydroxylase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Hydroxylase verstanden.

10

Unter einer Hydroxylase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, am, gegebenenfalls substituierten, β -Ionon-Ring von Carotinoiden eine Hydroxy-Gruppe einzuführen.

5

Insbesondere wird unter einer Hydroxylase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, β -Carotin in Zeaxanthin oder Canthaxanthin in Astaxanthin umzuwandeln.

10 Dementsprechend wird unter Hydroxylase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase umgesetzte Menge β -Carotin oder Canthaxanthin bzw. gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin verstanden.

15 In einer bevorzugten Ausführungsform werden Pflanzen kultiviert, die gegenüber dem Wildtyp zusätzlich eine erhöhte Hydroxylase-Aktivität und/oder β -Cyclase-Aktivität aufweisen.

Unter Hydroxylase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer Hydro-
20 xylase verstanden.

Unter einer Hydroxylase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, am, gegebenenfalls substituierten, β -Ionon-Ring von Carotinoiden eine Hydroxy-Gruppe einzuführen.

25

Insbesondere wird unter einer Hydroxylase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, β -Carotin in Zeaxanthin oder Cantaxanthin in Astaxanthin umzuwandeln.

30 Dementsprechend wird unter Hydroxyase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase umgesetzte Menge β -Carotin oder Cantaxanthin bzw. gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin verstanden.

35 Bei einer erhöhten Hydroxylase-Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein Hydroxylase die umgesetzte Menge β -Carotin oder Cantaxanthin bzw. die gebildete Menge Zeaxanthin oder Astaxanthin erhöht.

40

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der Hydroxylase-Aktivität des Wild-
45 typs.

11

Unter β -Cyclase-Aktivität wird die Enzymaktivität einer β -Cyclase verstanden.

Unter einer β -Cyclase wird ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, einen endständigen, linearen Rest von Lycopin in einen β -Ionon-Ring zu überführen.

Insbesondere wird unter einer β -Cyclase ein Protein verstanden, das die enzymatische Aktivität aufweist, γ -Carotin in β -Carotin umzuwandeln.

Dementsprechend wird unter β -Cyclase-Aktivität die in einer bestimmten Zeit durch das Protein β -Cyclase umgesetzte Menge γ -Carotin bzw. gebildete Menge β -Carotin verstanden.

Bei einer erhöhten β -Cyclase -Aktivität gegenüber dem Wildtyp wird somit im Vergleich zum Wildtyp in einer bestimmten Zeit durch das Protein β -Cyclase die umgesetzte Menge γ -Carotin bzw. die gebildete Menge β -Carotin erhöht.

Vorzugsweise beträgt diese Erhöhung der β -Cyclase-Aktivität mindestens 5 %, weiter bevorzugt mindestens 20 %, weiter bevorzugt mindestens 50 %, weiter bevorzugt mindestens 100 %, bevorzugter mindestens 300 %, noch bevorzugter mindestens 500 %, insbesondere mindestens 600 % der β -Cyclase-Aktivität des Wildtyps.

Unter dem Begriff "Wildtyp" wird erfindungsgemäß die entsprechende nicht genetisch veränderte Ausgangspflanze verstanden.

Vorzugsweise und insbesondere in Fällen, in denen die Pflanze oder der Wildtyp nicht eindeutig zugeordnet werden kann, wird unter "Wildtyp" für die Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität, für die Erhöhung der β -Cyclase-Aktivität und für die Erhöhung des Gehalts an Ketocarotinoiden jeweils eine Referenzpflanze verstanden.

Diese Referenzpflanze ist vorzugsweise *Lycopersicon esculentum*.

Die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Pflanzen und in Wildtyp- bzw. Referenzpflanzen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Die Aktivität der Hydroxylase wird nach Bouvier et al. (Biochim. Biophys. Acta 1391 (1998), 320-328) *in vitro* bestimmt. Es wird zu einer bestimmten Menge an Pflanzenextrakt Ferredoxin, Ferredoxin-NADP Oxidoreductase, Katalase, NADPH sowie beta-Carotin mit Mono- und Digalaktosylglyzeriden zugegeben.

12

Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität unter folgenden Bedingungen nach Bouvier, Keller, d'Harlingue und Camara (Xanthophyll biosynthesis: molecular and functional characterization of carotenoid hydroxylases from pepper fruits (*Capsicum annuum* L.; Biochim. Biophys. Acta 1391 (1998), 320-328):

- Der in-vitro Assay wird in einem Volumen von 0.250 ml Volumen durchgeführt. Der Ansatz enthält 50 mM Kaliumphosphat (pH 7.6),
- 10 0.025 mg Ferredoxin von Spinat, 0.5 Einheiten Ferredoxin-NADP+ Oxidoreduktase von Spinat, 0.25 mM NADPH, 0.010 mg beta-Carotin (in 0.1 mg Tween 80 emulgiert), 0.05 mM einer Mischung von Mono- und Digalaktosylglyzeriden (1:1), 1 Einheit Katalyse, 200 Mono- und Digalaktosylglyzeriden, (1:1), 0.2 mg Rinderserumalbumin und
- 15 Pflanzenextrakt in unterschiedlichem Volumen. Die Reaktionsmischung wird 2 Stunden bei 30°C inkubiert. Die Reaktionsprodukte werden mit organischem Lösungsmittel wie Aceton oder Chloroform/Methanol (2:1) extrahiert und mittels HPLC bestimmt.
- 20 Die Bestimmung der β -Cyclase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Pflanzen und in Wildtyp- bzw. Referenzpflanzen erfolgt vorzugsweise unter folgenden Bedingungen:

Die Aktivität der β -Cyclase wird nach Fraser und Sandmann (Biochem. Biophys. Res. Comm. 185(1) (1992) 9-15) in vitro bestimmt.

25 Es werden zu einer bestimmten Menge an Pflanzenextrakt Kaliumphosphat als Puffer (pH 7.6), Lycopin als Substrat, Stromaprotein von Paprika, NADP+, NADPH und ATP zugegeben.

30 Besonders bevorzugt erfolgt die Bestimmung der Hydroxylase-Aktivität unter folgenden Bedingungen nach Bouvier, d'Harlingue und Camara (Molecular Analysis of carotenoid cyclase inhibition; Arch. Biochem. Biophys. 346(1) (1997) 53-64):

- 35 Der in-vitro Assay wird in einem Volumen von 250 μ l Volumen durchgeführt. Der Ansatz enthält 50 mM Kaliumphosphat (pH 7.6), unterschiedliche Mengen an Pflanzenextrakt, 20 nM Lycopin, 250 μ g an chromoplastidärem Stromaprotein aus Paprika, 0.2 mM NADP+, 0.2 mM NADPH und 1 mM ATP. NADP/NADPH und ATP werden in
- 40 10 ml Ethanol mit 1 mg Tween 80 unmittelbar vor der Zugabe zum Inkubationsmedium gelöst. Nach einer Reaktionszeit von 60 Minuten bei 30°C wird die Reaktion durch Zugabe von Chloroform/Methanol (2:1) beendet. Die in Chloroform extrahierten Reaktionsprodukte werden mittels HPLC analysiert.

Ein alternativer Assay mit radioaktivem Substrat ist beschrieben in Fraser und Sandmann (Biochem. Biophys. Res. Comm. 185(1) (1992) 9-15).

- 5 Die Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität und/oder β -Cyclase-Aktivität kann durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Ausschalten von hemmenden Regulationsmechanismen auf Expressions- und Proteinebene oder durch Erhöhung der Genexpression von Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase und/oder von Nukleinsäuren
10 kodierend eine β -Cyclase gegenüber dem Wildtyp.

- Die Erhöhung der Genexpression der Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase und/oder die Erhöhung der Genexpression der Nukleinsäure kodierend eine β -Cyclase gegenüber dem Wildtyp kann ebenfalls durch verschiedene Wege erfolgen, beispielsweise durch Induzierung des Hydroxylase-Gens und/oder β -Cyclase-Gens durch Aktivatoren oder durch Einbringen von einer oder mehrerer Hydroxylase-Genkopien und/oder β -Cyclase-Genkopien, also durch Einbringen mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase und/oder
15 mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine ϵ -Cyclase in die Pflanze.
20

- Unter Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure codierend eine Hydroxylase und/oder β -Cyclase wird erfindungsgemäß auch die
25 Manipulation der Expression der Pflanzen eigenen, endogenen Hydroxylase und/oder β -Cyclase verstanden.

- Dies kann beispielsweise durch Veränderung der Promotor DNA-Sequenz für Hydroxylasen und/oder β -Cyclasen kodierende Gene erreicht werden. Eine solche Veränderung, die eine erhöhte Expressionsrate des Gens zur Folge hat, kann beispielsweise durch Deletion oder Insertion von DNA Sequenzen erfolgen.
30

- Es ist, wie vorstehend beschrieben, möglich, die Expression der
35 endogenen Hydroxylase und/oder β -Cyclase durch die Applikation exogener Stimuli zu verändern. Dies kann durch besondere physiologische Bedingungen, also durch die Applikation von Fremdstoffen erfolgen.

- 40 Des weiteren kann eine veränderte bzw. erhöhte Expression eines endogenen Hydroxylase- und/oder β -Cyclase-Gens dadurch erzielt werden, dass ein in der nicht transformierten Pflanze nicht vorkommendes Regulator-Protein mit dem Promotor dieses Gens in Wechselwirkung tritt.

14

Solch ein Regulator kann ein chimäres Protein darstellen, welches aus einer DNA-Bindedomäne und einer Transkriptionsaktivator-Domäne besteht, wie beispielsweise in WO 96/06166 beschrieben.

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase und/oder die Erhöhung der Genexpression einer Nukleinsäure kodierend eine β -Cyclase durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase und/oder durch Einbringen von mindestens einer Nukleinsäure kodierend eine β -Cyclase in die Pflanze.

Dazu kann prinzipiell jedes Hydroxylase-Gen bzw. jedes β -Cyclase-Gen, also jede Nukleinsäure, die eine Hydroxylase und jede Nukleinsäure, die eine β -Cyclase codiert, verwendet werden.

15

Bei genomischen Hydroxylase-bzw. β -Cyclase-Nukleinsäure-Sequenzen aus eukaryontischen Quellen, die Introns enthalten, sind für den Fall das die Wirtspflanze nicht in der Lage ist oder nicht in die Lage versetzt werden kann, die entsprechende Hydroxylase bzw.

- 20 β -Cyclase zu exprimieren, bevorzugt bereits prozessierte Nukleinsäuresequenzen, wie die entsprechenden cDNAs zu verwenden.

Beispiele für Hydroxylase-Gene sind Nukleinsäuren,

- 25 kodierend eine Hydroxylase aus *Haematococcus pluvialis*, Accession AX038729, WO 0061764); (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 51, Protein: SEQ ID NO: 52),

sowie Hydroxylasegene der folgenden Accession Nummern:

30

|emb|CAB55626.1, CAA70427.1, CAA70888.1, CAB55625.1, AF499108_1, AF315289_1, AF296158_1, AAC49443.1, NP_194300.1, NP_200070.1, AAG10430.1, CAC06712.1, AAM88619.1, CAC95130.1, AAL80006.1, AF162276_1, AAO53295.1, AAN85601.1, CRTZ_ERWHE, CRTZ_PANAN, 35 BAB79605.1, CRTZ_ALCSP, CRTZ_AGRAU, CAB56060.1, ZP_00094836.1, AAC44852.1, BAC77670.1, NP_745389.1, NP_344225.1, NP_849490.1, ZP_00087019.1, NP_503072.1, NP_852012.1, NP_115929.1, ZP_00013255.1

- 40 Eine besonders bevorzugte Hydroxylase ist weiterhin die Hydroxylase aus Tomate) (Nukleinsäure: SEQ. ID. No. 55; Protein: SEQ. ID. No. 56)

45

15

Beispiele für b-Cyclase-Gene sind Nukleinsäuren, codierend eine b-Cyclase aus Tomate (Accession X86452). (Nukleinsäure: SEQ ID NO: 53, Protein: SEQ ID NO: 54), sowie b-Cyclase-Gene der folgenden Accession Nummern:

- 5
- S66350 lycopene beta-cyclase (EC 5.5.1.-) - tomato
CAA60119 lycopene synthase [*Capsicum annuum*]
S66349 lycopene beta-cyclase (EC 5.5.1.-) - common tobacco
CAA57386 lycopene cyclase [*Nicotiana tabacum*]
10 AAM21152 lycopene beta-cyclase [*Citrus sinensis*]
AAD38049 lycopene cyclase [*Citrus x paradisi*]
AAN86060 lycopene cyclase [*Citrus unshiu*]
AAF44700 lycopene beta-cyclase [*Citrus sinensis*]
AAK07430 lycopene beta-cyclase [*Adonis palaestina*]
15 AAG10429 beta cyclase [*Tagetes erecta*]
AAA81880 lycopene cyclase
AAB53337 Lycopene beta cyclase
AAL92175 beta-lycopene cyclase [*Sandersonia aurantiaca*]
CAA67331 lycopene cyclase [*Narcissus pseudonarcissus*]
20 AAM45381 beta cyclase [*Tagetes erecta*]
AAO18661 lycopene beta-cyclase [*Zea mays*]
AAG21133 chromoplast-specific lycopene beta-cyclase
[*Lycopersicon esculentum*]
AAF18989 lycopene beta-cyclase [*Daucus carota*]
25 ZP_001140 hypothetical protein [*Prochlorococcus marinus* str.
MIT9313]
ZP_001050 hypothetical protein [*Prochlorococcus marinus* subsp.
pastoris str. CCMP1378]
ZP_001046 hypothetical protein [*Prochlorococcus marinus* subsp.
pastoris str. CCMP1378]
30 ZP_001134 hypothetical protein [*Prochlorococcus marinus* str.
MIT9313]
ZP_001150 hypothetical protein [*Synechococcus* sp. WH 8102]
AAF10377 lycopene cyclase [*Deinococcus radiodurans*]
35 BAA29250 393aa long hypothetical protein [*Pyrococcus*
horikoshii]
BAC77673 lycopene beta-monocyclase [marine bacterium P99-3]
AAL01999 lycopene cyclase [*Xanthobacter* sp. Py2]
ZP_000190 hypothetical protein [*Chloroflexus aurantiacus*]
40 ZP_000941 hypothetical protein [*Novosphingobium*
aromaticivorans]
AAF78200 lycopene cyclase [*Bradyrhizobium* sp. ORS278]
BAB79602 crtY [*Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*]
CAA64855 lycopene cyclase [*Streptomyces griseus*]
45 AAA21262 dycopene cyclase [*Pantoea agglomerans*]
C37802 crtY protein - *Erwinia uredovora*
BAB79602 crtY [*Pantoea agglomerans* pv. *milletiae*]

16

- AAA64980 lycopene cyclase [Pantoea agglomerans]
- AAC44851 lycopene cyclase
- BAA09593 Lycopene cyclase [Paracoccus sp. MBIC1143]
- ZP_000941 hypothetical protein [Novosphingobium
- 5 aromaticivorans]
- CAB56061 lycopene beta-cyclase [Paracoccus marcusii]
- BAA20275 lycopene cyclase [Erythrobacter longus]
- ZP_000570 hypothetical protein [Thermobifida fusca]
- ZP_000190 hypothetical protein [Chloroflexus aurantiacus]
- 10 AAK07430 lycopene beta-cyclase [Adonis palaestina]
- CAA67331 lycopene cyclase [Narcissus pseudonarcissus]
- AAB53337 Lycopene beta cyclase
- BAC77673 lycopene beta-monocyclase [marine bacterium P99-3]

- 15 Eine besonders bevorzugte β -Cyclase ist weiterhin die chromoplastenspezifische b-Cyclase aus Tomate (AAG21133) (Nukleinsäure: SEQ. ID. No. 57; Protein: SEQ. ID. No. 58)

In den erfindungsgemäßen bevorzugten transgenen Pflanzen liegt
 20 also in dieser bevorzugten Ausführungsform gegenüber dem Wildtyp mindestens ein weiteres Hydroxylase-Gen und/oder β -Cyclase-Gen vor.

In dieser bevorzugten Ausführungsform weist die genetisch veränderte Pflanze beispielsweise mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine Hydroxylase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine Hydroxylase und/oder mindestens eine exogene Nukleinsäure, kodierend eine β -Cyclase oder mindestens zwei endogene Nukleinsäuren, kodierend eine β -Cyclase auf.

30 Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter Ausführungsform als Hydroxylase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 52 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität
 35 von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70%, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ. ID. NO: 52, und die die enzymatische Eigenschaft einer Hydroxylase
 40 aufweisen.

Weitere Beispiele für Hydroxylasen und Hydroxylase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden

rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SEQ ID. NO: 52 leicht auffinden.

- Weitere Beispiele für Hydroxylasen und Hydroxylase-Gene lassen
- 5 sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz
SEQ ID NO: 51 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, wie vorstehend beschrieben, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich bekannter Weise leicht auffinden.
- 10 In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der Hydroxylase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz der Hydroxylase der Sequenz SEQ ID NO: 52.
- 15 Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.
- 20 Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der pflanzenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.
- 25 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ. ID. NO: 51 in den Organismus ein.
- Bevorzugt verwendet man in vorstehend beschriebener bevorzugter
- 30 Ausführungsform als β -Cyclase-Gene Nukleinsäuren, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 54 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 30 %, vorzugsweise mindestens 50 %, bevorzugter mindestens 70 %, noch bevorzugter mindestens 90 %, am bevorzugtesten
- 35 mindestens 95 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 54, und die die enzymatische Eigenschaft einer β -Cyclase aufweisen.
- 40 Weitere Beispiele für β -Cyclasen und β -Cyclase-Gene lassen sich beispielsweise aus verschiedenen Organismen, deren genomische Sequenz bekannt ist, wie vorstehend beschrieben durch Homologievergleiche der Aminosäuresequenzen oder der entsprechenden rückübersetzten Nukleinsäuresequenzen aus Datenbanken mit der SEQ ID NO:
- 45 54 leicht auffinden.

18.

Weitere Beispiele für β -Cyclasen und β -Cyclase-Gene lassen sich weiterhin beispielsweise ausgehend von der Sequenz SEQ ID NO: 53 aus verschiedenen Organismen deren genomische Sequenz nicht bekannt ist, durch Hybridisierungs- und PCR-Techniken in an sich
5 bekannter Weise leicht auffinden.

In einer weiter besonders bevorzugten Ausführungsform werden zur Erhöhung der β -Cyclase-Aktivität Nukleinsäuren in Organismen eingebracht, die Proteine kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz
10 der β -Cyclase der Sequenz SEQ. ID. NO: 54.

Geeignete Nukleinsäuresequenzen sind beispielsweise durch Rückübersetzung der Polypeptidsequenz gemäß dem genetischen Code erhältlich.

15

Bevorzugt werden dafür solche Codons verwendet, die entsprechend der pflanzenspezifischen codon usage häufig verwendet werden. Die codon usage lässt sich anhand von Computerauswertungen anderer, bekannter Gene der betreffenden Organismen leicht ermitteln.

20

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform bringt man eine Nukleinsäure, enthaltend die Sequenz SEQ. ID. NO: 53 in den Organismus ein.

25 Alle vorstehend erwähnten Hydroxylase-Gene oder β -Cyclase-Gene sind weiterhin in an sich bekannter Weise durch chemische Synthese aus den Nukleotidbausteinen wie beispielsweise durch Fragmentkondensation einzelner überlappender, komplementärer Nukleinsäurebausteine der Doppelhelix herstellbar. Die chemische Syn-
30 these von Oligonukleotiden kann beispielsweise, in bekannter Weise, nach der Phosphoamiditmethode (Voet, Voet, 2. Auflage, Wiley Press New York, Seite 896-897) erfolgen. Die Anlagerung synthetischer Oligonukleotide und Auffüllen von Lücken mithilfe des Klenow-Fragmentes der DNA-Polymerase und Ligationsreaktionen so-
35 wie allgemeine Klonierungsverfahren werden in Sambrook et al. (1989), Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, beschrieben.

Besonders bevorzugte Pflanzen sind Pflanzen, ausgewählt aus den
40 Pflanzengattungen Actinophloeus, Aglaeonema, Ananas, Arbutus, Archontophoenix, Area, Aronia, Asparagus, Attalea, Berberis, Bixia, Brachychilum, Bryonia, Caliptocalix, Capsicum, Carica, Celastrus, Citrullus, Citrus, Convallaria, Cotoneaster, Crataegus, Cucumis, Cucurbita, Cuscuta, Cycas, Cyphomandra,
45 Dioscorea, Diospyrus, Dura, Elaeagnus, Elaeis, Erythroxylon, Euonymus, Ficus, Fortunella, Fragaria, Gardinia, Gonocaryum, Gossypium, Guava, Guilielma, Hibiscus, Hippophaea, Iris, Lathy-

rus, Lonicera, Luffa, Lycium, Lycopersicum, Malpighia, Mangifera, Mormodica, Murraya, Musa, Nenga, Palisota, Pandanus, Passiflora, Persea, Physalis, Prunus, Ptychandra, Punica, Pyracantha, Pyrus, Ribes, Rosa, Rubus, Sabal, Sambucus, Seaforita, Shepherdia, Solanum, Sorbus, Synaspadix, Tabernae, Tamus, Taxus, Trichosanthes, Triphasia, Vaccinium, Viburnum, Vignia oder Vitis.

Die Bestimmung der Ketolase-Aktivität in erfindungsgemäßen genetisch veränderten Pflanzen erfolgt in Anlehnung an die Methode von Frazer et al., (J. Biol. Chem. 272(10): 6128-6135, 1997). Die Ketolase-Aktivität in pflanzlichen Extrakten wird mit den Substraten beta-Carotin und Canthaxanthin in Gegenwart von Lipid (Sojalecithin) und Detergens (Natriumcholat) bestimmt. Substrat/Produkt-Verhältnisse aus den Ketolase-Assays werden mittels HPLC ermittelt.

Im erfindungsgemäßen Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden wird vorzugsweise dem Kultivierungsschritt der genetisch veränderten Pflanzen, im folgenden auch transgene Pflanzen bezeichnet, ein Ernten der Pflanzen und ein Isolieren von Ketocarotinoiden aus den Früchten der Pflanzen angeschlossen.

Die transgenen Pflanzen werden in an sich bekannter Weise auf Nährböden gezogen und entsprechend geerntet.

Die Isolierung von Ketocarotinoiden aus den geernteten Früchten erfolgt in an sich bekannter Weise, beispielsweise durch Trocknung und anschließender Extraktion und gegebenenfalls weiterer chemischer oder physikalischer Reinigungsprozesse, wie beispielsweise Fällungsmethoden, Kristallographie, thermische Trennverfahren, wie Rektifizierverfahren oder physikalische Trennverfahren, wie beispielsweise Chromatographie. Die Isolierung von Ketocarotinoiden aus den Früchten erfolgt beispielsweise bevorzugt durch organische Lösungsmittel wie Aceton, Hexan, Ether oder tert.-Methylbutylether.

Weitere Isolierverfahren von Ketocarotinoiden sind beispielsweise in Egger und Kleinig (Phytochemistry (1967) 6, 437-440) und Egger (Phytochemistry (1965) 4, 609-618) beschrieben.

Vorzugsweise sind die Ketocarotinoide ausgewählt aus der Gruppe Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin.

Ein besonders bevorzugtes Ketocarotinoid ist Astaxanthin.

Die Herstellung der transgenen Pflanzen erfolgt vorzugsweise durch Transformation der Ausgangspflanzen, mit einem Nukleinsäurekonstrukt, das mindestens eine, vorzugsweise auch mehrere der vorstehend beschriebenen Nukleinsäuren enthält, die mit einem 5 oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten.

Diese Nukleinsäurekonstrukte, in denen die kodierende Nukleinsäuresequenz mit einem oder mehreren Regulationssignalen funktionell verknüpft sind, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten, werden im folgenden auch Expressionskassetten genannt.

Vorzugsweise enthalten die Regulationssignale einen oder mehrere 15 Promotoren, die die Transkription und Translation in Pflanzen gewährleisten.

Die Expressionskassetten beinhalten Regulationssignale, also regulative Nukleinsäuresequenzen, welche die Expression der 20 kodierenden Sequenz in der Wirtszelle steuern. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform umfasst eine Expressionskassette stromaufwärts, d.h. am 5'-Ende der kodierenden Sequenz, einen Promotor und stromabwärts, d.h. am 3'-Ende, ein Polyadenylierungssignal und gegebenenfalls weitere regulatorische Elemente, welche mit 25 der dazwischenliegenden kodierenden Sequenz für mindestens eines der vorstehend beschriebenen Gene operativ verknüpft sind. Unter einer operativen Verknüpfung versteht man die sequenzielle Anordnung von Promotor, kodierender Sequenz, Terminator und ggf. weiterer regulativer Elemente derart, dass jedes der regulativen 30 Elemente seine Funktion bei der Expression der kodierenden Sequenz bestimmungsgemäß erfüllen kann.

Im folgenden werden beispielhaft die bevorzugten Nukleinsäurekonstrukte, Expressionskassetten und Vektoren für Pflanzen und Verfahren zur Herstellung von transgenen Pflanzen, sowie die transgenen Pflanzen selbst beschrieben. 35

Die zur operativen Verknüpfung bevorzugten aber nicht darauf beschränkten Sequenzen sind Targeting-Sequenzen zur Gewährleistung der subzellulären Lokalisation im Apoplasten, in der Vakuole, in Plastiden, im Mitochondrium, im Endoplasmatischen Retikulum (ER), im Zellkern, in Ölkörperchen oder anderen Kompartimenten und Translationsverstärker wie die 5'-Führungssequenz aus dem Tabak-Mosaik-Virus (Gallie et al., Nucl. Acids Res. 15 (1987), 45 8693-8711).

Als Promotoren der Expressionskassette ist grundsätzlich jeder Promotor geeignet, der die Expression von Fremdgenen in Pflanzen steuern kann.

- 5 "Konstitutiver" Promotor meint solche Promotoren, die eine Expression in zahlreichen, bevorzugt allen, Geweben über einen größeren Zeitraum der Pflanzenentwicklung, bevorzugt zu allen Zeitpunkten der Pflanzenentwicklung, gewährleisten.
- 10 Vorzugsweise verwendet man insbesondere einen pflanzlichen Promotor oder einen Promotor, der einem Pflanzenvirus entstammt. Insbesondere bevorzugt ist der Promotor des 35S-Transkriptes des CaMV Blumenkohlmosaikvirus (Franck et al. (1980) Cell 21:285-294; Odell et al. (1985) Nature 313:810-812; Shewmaker et al. (1985) Virology 140:281-288; Gardner et al. (1986) Plant Mol Biol 6:221-228) oder der 19S CaMV Promotor (US 5,352,605; WO 84/02913; Benfey et al. (1989) EMBO J 8:2195-2202).

- Ein weiterer geeigneter konstitutiver Promotor ist der pds Promoter (Pecker et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci USA 89: 4962-4966) oder der "Rubisco small subunit (SSU)"-Promotor (US 4,962,028), der LeguminB-Promotor (GenBank Acc.-Nr. X03677), der Promotor der Nopalinsynthase aus Agrobacterium, der TR-Doppelpromotor, der OCS (Octopin Synthase) Promotor aus Agrobacterium, der Ubiquitin Promotor (Holtorf S et al. (1995) Plant Mol Biol 29:637-649), den Ubiquitin 1 Promotor (Christensen et al. (1992) Plant Mol Biol 18:675-689; Bruce et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:9692-9696), den Smas Promotor, den Cinnamylalcoholdehydrogenase-Promotor (US 5,683,439), die Promotoren der vakuolärer ATPase Untereinheiten oder der Promotor eines prolinreichen Proteins aus Weizen (WO 91/13991), der Pnit-Promoter (Y07648.L, Hillebrand et al. (1998), Plant. Mol. Biol. 36, 89-99, Hillebrand et al. (1996), Gene, 170, 197-200, der Ferredoxin-NADPH-Oxidoreductase Promotor (Datenbankeintrag AB011474, Position 70127 bis 69493), der TPT-Promoter (WO 03006660), der „Superpromotor“ (US-Patent 5955646), der 34S-Promotor (US-Patent 6051753) sowie weitere Promotoren von Genen, deren konstitutive Expression in Pflanzen dem Fachmann bekannt ist.
- 40 Die Expressionskassetten können auch einen chemisch induzierbaren Promotor enthalten (Übersichtsartikel: Gatz et al. (1997) Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 48:89-108), durch den die Expression des Ketolase-Gens in der Pflanze zu einem bestimmten Zeitpunkt gesteuert werden kann. Derartige Promotoren, wie z.B.
 - 45 der PRP1 Promotor (Ward et al. (1993) Plant Mol Biol 22:361-366), durch Salicylsäure induzierbarer Promotor (WO 95/19443), ein durch Benzolsulfonamid-induzierbarer Promotor (EP 0 388 186),

ein durch Tetrazyklin-induzierbarer Promotor (Gatz et al. (1992) Plant J 2:397-404), ein durch Abscisinsäure induzierbarer Promotor (EP 0 335 528) bzw. ein durch Ethanol- oder Cyclohexanon-induzierbarer Promotor (WO 93/21334) können ebenfalls
5 verwendet werden.

Ferner sind Promotoren bevorzugt, die durch biotischen oder abiotischen Stress induziert werden wie beispielsweise der pathogen-induzierbare Promotor des PRP1-Gens (Ward et al. (1993) Plant Mol
10 Biol 22:361-366), der hitzeinduzierbare hsp70- oder hsp80-Promoter aus Tomate (US 5,187,267), der kälteinduzierbare alpha-Amylase Promoter aus der Kartoffel (WO 96/12814), der licht-induzierbare PPK Promotor oder der verwundungsinduzierte pinII-Promoter (EP375091).

15 Pathogen-induzierbare Promotoren umfassen die von Genen, die infolge eines Pathogenbefalls induziert werden wie beispielsweise Gene von PR-Proteinen, SAR-Proteinen, b-1,3-Glucanase, Chitinase usw. (beispielsweise Redolfi et al. (1983) Neth J
20 Plant Pathol 89:245-254; Uknes, et al. (1992) The Plant Cell 4:645-656; Van Loon (1985) Plant Mol Biol 4:111-116; Marineau et al. (1987) Plant Mol Biol 9:335-342; Matton et al. (1987) Molecular Plant-Microbe Interactions 2:325-342; Somssich et al. (1986) Proc Natl Acad Sci USA 83:2427-2430; Somssich et al.
25 (1988) Mol Gen Genetics 2:93-98; Chen et al. (1996) Plant J 10:955-966; Zhang and Sing (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:2507-2511; Warner, et al. (1993) Plant J 3:191-201; Siebertz et al. (1989) Plant Cell 1:961-968 (1989).

30 Umfasst sind auch verwundungs-induzierbare Promotoren wie der des pinII Gens (Ryan (1990) Ann Rev Phytopath 28:425-449; Duan et al. (1996) Nat Biotech 14:494-498), des wun1 und wun2-Gens (US 5,428,148), des win1- und win2-Gens (Stanford et al. (1989) Mol Gen Genet 215:200-208), des Systemin (McGurl et al. (1992)
35 Science 225:1570-1573), des WIP1-Gens (Rohmeier et al. (1993) Plant Mol Biol 22:783-792; Ekelkamp et al. (1993) FEBS Letters 323:73-76), des MPI-Gens (Corderok et al. (1994) The Plant J 6(2):141-150) und dergleichen.

40 Weitere geeignete Promotoren sind beispielsweise fruchtreifungsspezifische Promotoren, wie beispielsweise der fruchtreifungsspezifische Promotor aus Tomate (WO 94/21794, EP 409 625). Entwicklungsabhängige Promotoren schließen zum Teil die gewebespezifischen Promotoren ein, da die Ausbildung einzelner Gewebe natur-
45 gemäß entwicklungsabhängig erfolgt.

23

Weiterhin sind insbesondere solche Promotoren bevorzugt, die die Expression in Geweben oder Pflanzenteilen sicherstellen, in denen beispielsweise die Biosynthese von Ketocarotinoiden bzw. dessen Vorstufen stattfindet. Bevorzugt sind beispielsweise Promotoren
5 mit Spezifitäten für die Antheren, Ovarien, Petalen, Sepalen, Blüten, Blätter, Stengel, Wurzeln und Früchte und Kombinationen hieraus.

Knollen-, Speicherwurzel- oder Wurzel-spezifische Promotoren
10 sind beispielsweise der Patatin Promotor Klasse I (B33) oder der Promotor des Cathepsin D Inhibitors aus Kartoffel.

Blattspezifische Promotoren sind beispielsweise der Promotor der cytosolischen FBPase aus Kartoffel (WO 97/05900), der SSU
15 Promotor (small subunit) der Rubisco (Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase) oder der ST-LSI Promotor aus Kartoffel (Stockhaus et al. (1989) EMBO J 8:2445-2451).

Blütenspezifische Promotoren sind beispielsweise der Phytoen Synthase Promotor (WO 92/16635) oder der Promotor des P-rr Gens (WO
20 98/22593).

Antheren-spezifische Promotoren sind beispielsweise der 5126-Promotor (US 5,689,049, US 5,689,051), der glöb-1 Promotor oder
25 der g-Zein Promotor.

Fruchtspezifische Promotoren sind beispielsweise

der Pds-Promoter aus Tomate (Genbank-ACCESSION U46919; Corona,
30 V., Aracri, B., Kosturkova, G., Bartley, G.E., Pitto, L., Giorgetti, L., Scolnik, P.A. and Giuliano, G., Regulation of a carotenoid biosynthesis gene promoter during plant development Plant J. 9 (4), 505-512 (1996)), SEQ ID NO.17,

35 der 2A11 Promoter aus Tomate (Pear, J.R., Ridge, N., Rasmussen, R., Rose, R.E. and Houck, C.M. Isolation and characterization of a fruit-specific cDNA and the corresponding genomic clone from tomato Plant Mol. Biol. 13 (6), 639-651 (1989), SEQ ID NO. 18,

40

der Cucumisin Promoter (Yamagata, H., Yonesu, K., Hirata, A. and Aizono, Y., TGTCACA Motif Is a Novel cis-Regulatory Enhancer Element Involved in Fruit-specific Expression of the cucumisin Gene J. Biol. Chem. 277 (13), 11582-11590 (2002), SEQ ID NO. 19,

45

der Promoter des Endogalacturonasegens (Redondo-Nevado, J., Medina-Escobar, N., Caballero-Repullo, J.L. and Munoz-Blanco, J.

A fruit-specific and developmentally regulated endo-polygalacturonase gene from strawberry (*Fragaria x ananassa* c.v. Chandler), J Experimental Botany 52 (362) 1941-1945 (2001), SEQ ID NO. 20,

der Polygalacturonase Promoter aus Tomate (Nicholass, F.J., Smith, C.J., Schuch, W., Bird, C.R. and Grierson, D., High levels of ripening-specific reporter gene expression directed by tomato fruit polygalacturonase gene-flanking regions, Plant Mol. Biol. 28 (3), 423-435 (1995)), SEQ ID NO. 21,

die TMF7 und TMF9 Promotoren (US 5608150),

15

der Promotor E4 (Cordes S. Deikman J. Margossian L.J. Fischer R.L. Interaction of a developmentally regulated DNA-binding factor with sites flanking two different fruit-ripening genes from tomato (1989), Plant Cell 1, 1025-1034) und

20

der Promotor E8 (Deikman and Fisher, Interaction of a DNA binding factor with the 5'-flanking region of an ethylene-responsive fruit ripening gene from tomato (1988), EMBO J. 7, 3315-3320). Weitere zur Expression in Pflanzen geeignete Promotoren sind beschrieben (Rogers et al. (1987) Meth in Enzymol 153:253-277; Schardl et al. (1987) Gene 61:1-11; Berger et al. (1989) Proc Natl Acad Sci USA 86:8402-8406)

25

Alle in der vorliegenden Anmeldung beschriebenen Promotoren ermöglichen in der Regel die Expression der Ketolase in Früchten der erfindungsgemäßen Pflanzen.

30

Besonders bevorzugt im erfindungsgemäßen Verfahren sind konstitutive sowie insbesondere fruchtspezifische Promotoren.

35

Die vorliegende Erfindung betrifft daher insbesondere ein Nukleinsäurekonstrukt, enthaltend funktionell verknüpft einen fruchtspezifischen Promotor, besonders bevorzugt einen oben beschriebenen fruchtspezifischen Promotor, und eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

40

Die Herstellung einer Expressionskassette erfolgt vorzugsweise durch Fusion eines geeigneten Promotors mit einer vorstehend beschriebenen Nukleinsäure kodierend eine Ketolase und vorzugsweise einer zwischen Promotor und Nukleinsäure-Sequenz inserierten Nukleinsäure, die für ein plastidenspezifisches Transitpeptid kodiert, sowie einem Polyadenylierungssignal nach gängigen

45

Rekombinations- und Klonierungstechniken, wie sie beispielsweise in T. Maniatis, E.F. Fritsch und J. Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989) sowie in T.J. Silhavy, M.L. Berman und L.W. Enquist, *Experiments with Gene Fusions*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1984) und in Ausubel, F.M. et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Assoc. and Wiley-Interscience (1987) beschrieben sind.

- 10 Die vorzugsweise insertierte Nukleinsäuren, kodierend ein plastidäres Transitpeptid, gewährleisten die Lokalisation in Plastiden und insbesondere in Chromoplasten.

- Es können auch Expressionskassetten verwendet werden, deren
- 15 Nukleinsäure-Sequenz für ein Ketolase-Fusionsprotein kodiert, wobei ein Teil des Fusionsproteins ein Transitpeptid ist, das die Translokation des Polypeptides steuert. Bevorzugt sind für die Chromoplasten spezifische Transitpeptide, welche nach Translokation der Ketolase in die Chromoplasten vom Ketolase-Teil
- 20 enzymatisch abgespalten werden.

- Insbesondere bevorzugt ist das Transitpeptid, das von der plastidären *Nicotiana tabacum* Transketolase oder einem anderen Transitpeptid (z.B. dem Transitpeptid der kleinen Untereinheit der
- 25 Rubisco (rbcS) oder der Ferredoxin NADP Oxidoreduktase als auch der Isopentenylpyrophosphat Isomerase-2) oder dessen funktionellem Äquivalent abgeleitet ist.

- Besonders bevorzugt sind Nukleinsäure-Sequenzen von drei
- 30 Kassetten des Plastiden-Transitpeptids der plastidären Transketolase aus Tabak in drei Leserastern als KpnI/BamHI Fragmente mit einem ATG-Kodon in der NcoI Schnittstelle:

pTP09

35

KpnI_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTTCTCTCACTCTCTCTCAAGCTATCCTCTCTCGTTCTGTC
CCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTTCTCAACTTTCCCCTTCTTCTCTCACTTTTCCGGCCTTAA
ATCCAATCCCAATATCACCACCTCCCGCCGCCGTACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGCCGTGCG
TAAGGTCACCGGCGATTTCGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAAAGTGAAGTGCAGGGA
40 TCC_BamHI

pTP10

- KpnI_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTTCTCTCACTCTCTCTCAAGCTATCCTCTCTCGTTCTGTC
45 CCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTTCTCAACTTTCCCCTTCTTCTCTCACTTTTCCGGCCTTAA
ATCCAATCCCAATATCACCACCTCCCGCCGCCGTACTCCTTCCTCCGCCGCCGCCGCCGCCGTGCG

TAAGGTCACCGGCGATTTCGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAAAGTGAAGTGCCTG
GATCC_BamHI

pTP11

5

KpnI_GGTACCATGGCGTCTTCTTCTCTCACTCTCTCTCAAGCTATCCTCTCTCGTTCTGTC
CCTCGCCATGGCTCTGCCTCTTCTTCTCAACTTTCCCTTCTTCTCTCACTTTTCCGGCCTTAA
ATCCAATCCCAATATCACCACCTCCCGCCGCCGTACTCCTTCCCTCCGCCGCCGCCGCCGCCGTG
TAAGGTCACCGGCGATTTCGTGCCTCAGCTGCAACCGAAACCATAGAGAAAAGTGAAGTGCCTG

10 ATCC_BamHI

Weitere Beispiele für ein plastidäres Transitpeptid sind das Transitpeptid der plastidären Isopentenyl-pyrophosphat Isomerase-2 (IPP-2) aus *Arabidopsis thaliana* und das Transitpeptid der kleinen Untereinheit der Ribulosebisphosphat Carboxylase (rbcS) aus Erbse (Guerineau, F, Woolston, S, Brooks, L, Mullineaux, P (1988) An expression cassette for targeting foreign proteins into the chloroplasts. Nucl. Acids Res. 16: 11380).

20 Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuren können synthetisch hergestellt oder natürlich gewonnen sein oder eine Mischung aus synthetischen und natürlichen Nukleinsäure-Bestandteilen enthalten, sowie aus verschiedenen heterologen Genabschnitten verschiedener Organismen bestehen.

25

Bevorzugt sind, wie vorstehend beschrieben, synthetische Nukleotid-Sequenzen mit Kodons, die von Pflanzen bevorzugt werden. Diese von Pflanzen bevorzugten Kodons können aus Kodons mit der höchsten Proteinhäufigkeit bestimmt werden, die in den meisten

30 interessanten Pflanzenspezies exprimiert werden.

Bei der Präparation einer Expressionskassette können verschiedene DNA-Fragmente manipuliert werden, um eine Nukleotid-Sequenz zu erhalten, die zweckmäßigerweise in der korrekten Richtung liest und die mit einem korrekten Leseraster ausgestattet ist. Für die Verbindung der DNA-Fragmente miteinander können an die Fragmente Adaptoren oder Linker angesetzt werden.

Zweckmäßigerweise können die Promotor- und die Terminator-Regionen in Transkriptionsrichtung mit einem Linker oder Polylinker, der eine oder mehrere Restriktionsstellen für die Insertion dieser Sequenz enthält, versehen werden. In der Regel hat der Linker 1 bis 10, meistens 1 bis 8, vorzugsweise 2 bis 6 Restriktionsstellen. Im allgemeinen hat der Linker innerhalb der regulatorischen Bereiche eine Größe von weniger als 100 bp, häufig weniger als 60 bp, mindestens jedoch 5 bp. Der Promotor kann sowohl nativ bzw. homolog als auch fremdartig bzw. heterolog zur Wirtspflanze

sein. Die Expressionskassette beinhaltet vorzugsweise in der 5'-3'-Transkriptionsrichtung den Promotor, eine kodierende Nukleinsäuresequenz oder ein Nukleinsäurekonstrukt und eine Region für die transkriptionale Termination. Verschiedene Terminationsbereiche sind gegeneinander beliebig austauschbar.

Ein Beispiel für einen Terminator ist der 35S-Terminator (Guerineau et al. (1988) Nucl Acids Res. 16: 11380), der nos Terminator (Depicker A, Stachel S, Dhaese P, Zambryski P, Goodman HM. Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. J Mol Appl Genet. 1982;1(6):561-73) oder der ocs Terminator (Gielen, J, de Beuckeleer, M, Seurinck, J, Debroek, H, de Greve, H, Lemmers, M, van Montagu, M, Schell, J (1984) The complete sequence of the TL-DNA of the Agrobacterium tumefaciens plasmid pTiAch5. EMBO J. 3: 835-846).

Ferner können Manipulationen, die passende Restriktionsschnittstellen bereitstellen oder die überflüssige DNA oder Restriktionsschnittstellen entfernen, eingesetzt werden. Wo Insertionen, Deletionen oder Substitutionen wie z.B. Transitionen und Transversionen in Frage kommen, können in vitro-Mutagenese, "primer-repair", Restriktion oder Ligation verwendet werden.

Bei geeigneten Manipulationen, wie z.B. Restriktion, "chewing-back" oder Auffüllen von Überhängen für "bluntends", können komplementäre Enden der Fragmente für die Ligation zur Verfügung gestellt werden.

Bevorzugte Polyadenylierungssignale sind pflanzliche Polyadenylierungssignale, vorzugsweise solche, die im wesentlichen T-DNA-Polyadenylierungssignale aus Agrobacterium tumefaciens, insbesondere des Gens 3 der T-DNA (Octopin Synthase) des Ti-Plasmids pTiACH5 entsprechen (Gielen et al., EMBO J. 3 (1984), 835 ff) oder funktionelle Äquivalente.

Die Übertragung von Fremdgenen in das Genom einer Pflanze wird als Transformation bezeichnet.

Dazu können an sich bekannte Methoden zur Transformation und Regeneration von Pflanzen aus Pflanzengewebe oder Pflanzenzellen zur transienten oder stabilen Transformation genutzt werden.

Geeignete Methoden zur Transformation von Pflanzen sind die Protoplastentransformation durch Polyethylenglykol-induzierte DNA-Aufnahme, das biolistische Verfahren mit der Genkanone - die sogenannte particle bombardment Methode, die Elektroporation, die Inkubation trockener Embryonen in DNA-haltiger Lösung, die Mikro-

injektion und der, vorstehend beschriebene, durch *Agrobacterium* vermittelte Gentransfer. Die genannten Verfahren sind beispielsweise in B. Jenes et al., *Techniques for Gene Transfer*, in: *Transgenic Plants*, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von S.D. Kung und R. Wu, Academic Press (1993), 128-143 sowie in Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991), 205-225) beschrieben.

Vorzugsweise wird das zu exprimierende Konstrukt in einen Vektor kloniert, der geeignet ist, *Agrobacterium tumefaciens* zu transformieren, beispielsweise pBin19 (Bevan et al., *Nucl. Acids Res.* 12 (1984), 8711) oder besonders bevorzugt pSUN2, pSUN3, pSUN4 oder pSUN5 (WO 02/00900).

15 Mit einem Expressionsplasmid transformierte Agrobakterien können in bekannter Weise zur Transformation von Pflanzen verwendet werden, z.B. indem verwundete Blätter oder Blattstücke in einer Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.

20

Zur bevorzugten Herstellung von genetisch veränderten Pflanzen, im folgenden auch transgene Pflanzen bezeichnet, wird die fusionierte Expressionskassette, die eine Ketolase exprimiert, in einen Vektor, beispielsweise pBin19 oder insbesondere pSUN2 kloniert, der geeignet ist, in *Agrobacterium tumefaciens* transformiert zu werden

Mit einem solchen Vektor transformierte Agrobakterien können dann in bekannter Weise zur Transformation von Pflanzen, insbesondere von Kulturpflanzen verwendet werden, indem beispielsweise verwundete Blätter oder Blattstücke in einer Agrobakterienlösung gebadet und anschließend in geeigneten Medien kultiviert werden.

Die Transformation von Pflanzen durch Agrobakterien ist unter anderem bekannt aus F.F. White, *Vectors for Gene Transfer in Higher Plants*; in *Transgenic Plants*, Vol. 1, Engineering and Utilization, herausgegeben von S.D. Kung und R. Wu, Academic Press, 1993, S. 15-38. Aus den transformierten Zellen der verwundeten Blätter bzw. Blattstücke können in bekannter Weise transgene Pflanzen regeneriert werden, die ein in die Expressionskassette integriertes Gen für die Expression einer Nukleinsäure codierend eine Ketolase enthalten.

Zur Transformation einer Wirtspflanze mit einer für eine Ketolase kodierenden Nukleinsäure wird eine Expressionskassette als Insertion in einen rekombinanten Vektor eingebaut, dessen Vektor-DNA zusätzliche funktionelle Regulationssignale, beispielsweise

Sequenzen für Replikation oder Integration enthält. Geeignete Vektoren sind unter anderem in "Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology" (CRC Press), Kap. 6/7, S. 71-119 (1993) beschrieben.

5

Unter Verwendung der oben zitierten Rekombinations- und Klonierungstechniken können die Expressionskassetten in geeignete Vektoren kloniert werden, die ihre Vermehrung, beispielsweise in *E. coli*, ermöglichen. Geeignete Klonierungsvektoren sind u.a.

- 10 pJIT117 (Guerineau et al. (1988) Nucl. Acids Res. 16 :11380), pBR332, pUC-Serien, M13mp-Serien, pACYC184, pMC1210, pMcl 210 und pCL1920. Besonders geeignet sind binäre Vektoren, die sowohl in *E. coli* als auch in Agrobakterien replizieren können.

- 15 Dabei kann je nach Wahl des Promotors die Expression konstitutiv oder vorzugsweise spezifisch in den Früchten erfolgen.

- Dementsprechend betrifft die Erfindung ferner ein Verfahren zur Herstellung von genetisch veränderten Pflanzen, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Nukleinsäurekonstrukt, enthaltend funktionell verknüpft einen fruchtspezifischen Promotor und Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase in das Genom der Ausgangspflanze einführt.
- 20

- 25 Die Erfindung betrifft ferner die genetisch veränderten Pflanzen, die im Vergleich zur Ausgangspflanze in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweist.

- Die Ketolaseaktivität wird in einer bevorzugten Ausführungsform dadurch erreicht, dass die genetisch veränderte Pflanze in den Früchten eine Ketolase exprimiert.
- 30

- Die bevorzugten, genetisch veränderten Pflanzen enthalten daher in Früchten mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.
- 35

- In einer weiter bevorzugten Ausführungsform erfolgt, wie vorstehend ausgeführt, die Verursachung der Genexpression einer Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, durch Einbringen von Nukleinsäuren, kodierend eine Ketolase, in die Ausgangspflanze.
- 40

- Der Erfindung betrifft daher besonders bevorzugt eine vorstehend beschriebene genetisch veränderte Pflanze, dadurch gekennzeichnet, dass man in die Pflanze ausgehend von einer Ausgangspflanze mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase eingebracht hat.
- 45

- Die Erfindung betrifft insbesondere genetisch veränderte Pflanzen, ausgewählt aus den Pflanzengattungen Actinophloeus, Aglaeonema, Ananas, Arbutus, Archontophoenix, Area, Aronia, Asparagus, Attalea, Berberis, Bixia, Brachychilum, Bryonia, Caliptocalix, 5 Capsicum, Carica, Celastrus, Citrullus, Citrus, Convallaria, Cotoneaster, Crataegus, Cucumis, Cucurbita, Cuscuta, Cycas, Cyphomandra, Dioscorea, Diospyrus, Dura, Elaeagnus, Elaeis, Erythroxylon, Euonymus, Ficus, Fortunella, Fragaria, Gardinia, Gonocaryum, Gossypium, Guava, Guilielma, Hibiscus, Hippophaea, 10 Iris, Lathyrus, Lonicera, Luffa, Lycium, Lycopersicum, Malpighia, Mangifera, Mormodica, Murraya, Musa, Nenga, Palisota, Pandanus, Passiflora, Persea, Physalis, Prunus, Ptychandra, Punica, Pyracantha, Pyrus, Ribes, Rosa, Rubus, Sabal, Sambucus, Seaforita, Shepherdia, Solanum, Sorbus, Synaspadix, Tabernae, Tamus, Taxus, 15 Trichosanthes, Triphasia, Vaccinium, Viburnum, Vignia oder Vitis, enthaltend mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

Ganz besonders bevorzugte Pflanzengattungen sind Ananas, Asparagus, Capsicum, Citrus, Cucumis, Cucurbita, Citrullus,

- 20 Lycopersicum, Passiflora, Prunus, Physalis, Solanum, Vaccinium und Vitis, enthaltend mindestens eine transgene Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

Wie vorstehend erwähnt wird in bevorzugten transgenen Pflanzen

- 25 die Ketolase in den Früchten exprimiert, besonderes bevorzugt ist die Expression der Ketolase in den Früchten am höchsten.

Besonders bevorzugte, genetisch veränderte Pflanzen weisen, wie vorstehend erwähnt, zusätzlich eine erhöhte Hydroxylase-Aktivität 30 und/oder β -Cyclase-Aktivität gegenüber einer Wildpflanze auf.

Weiter bevorzugte Ausführungsformen sind vorstehend im erfindungsgemäßen Verfahren beschrieben.

- Die transgenen Pflanzen, deren Vermehrungsgut, sowie deren Pflanzenzellen, -gewebe oder -teile, insbesondere deren Früchte sind 35 ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die genetisch veränderten Pflanzen können, wie vorstehend beschrieben, zur Herstellung von Ketocarotinoiden, insbesondere

- 40 Astaxanthin, verwendet werden.

Von Menschen und Tieren verzehrbare erfindungsgemäße, genetisch veränderte Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an Ketocarotinoiden können auch beispielsweise direkt oder nach an sich bekannter Prozessierung als Nahrungsmittel oder Futtermittel oder als Futter- 45 und Nahrungsergänzungsmittel verwendet werden. Ferner können die genetisch veränderten Pflanzen zur Herstellung von Ketocaroti-

31

noid-haltigen Extrakten der Pflanzen und/oder zur Herstellung von Futter- und Nahrungsergänzungsmitteln verwendet werden.

Die genetisch veränderten Pflanzen weisen im Vergleich zum Wild-
5 typ einen erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden auf.

Unter einem erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden wird in der Regel ein erhöhter Gehalt an Gesamt-Ketocarotinoid verstanden.

10 Unter einem erhöhten Gehalt an Ketocarotinoiden wird aber auch insbesondere ein veränderter Gehalt der bevorzugten Ketocarotinoide verstanden, ohne dass zwangsläufig der Gesamt-Carotinoidgehalt erhöht sein muss.

15 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weisen die erfindungsgemäßen, genetisch veränderten Pflanzen im Vergleich zum Wildtyp einen erhöhten Gehalt an Astaxanthin auf.

Unter einem erhöhten Gehalt wird in diesem Fall insbesondere
20 ein verursachter Gehalt an Ketocarotinoiden, bzw. Astaxanthin verstanden.

Die Erfindung wird durch die nun folgenden Beispiele erläutert, ist aber nicht auf diese beschränkt:

25

Allgemeine Experimentelle Bedingungen:
Sequenzanalyse rekombinanter DNA

Die Sequenzierung rekombinanter DNA-Moleküle erfolgte mit einem
30 Laserfluoreszenz-DNA-Sequenzierer der Firma Licor (Vertrieb durch MWG Biotech, Ebersbach) nach der Methode von Sanger (Sanger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 (1977), 5463-5467).

Beispiel 1: Amplifikation einer cDNA, die die gesamte Primär-
35 sequenz der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flow em. Wille kodiert

Die cDNA, die für die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* kodiert, wurde mittels PCR aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm
40 192.80 der "Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen") Suspensionskultur amplifiziert.

Für die Präparation von Total-RNA aus einer Suspensionskultur von *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80), die 2 Wochen mit in-
45 direktem Tageslicht bei Raumtemperatur in *Haematococcus*-Medium (1.2 g/l Natriumacetat, 2 g/l Hefeextrakt, 0.2 g/l $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 0.02 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$; pH 6.8; nach Autoklavieren Zugabe von 400 mg/l

32

L-Asparagin, 10 mg/l $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) gewachsen war, wurden die Zellen geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert. Anschließend wurden 100 mg der gefrorenen, pulverisierten Algenzellen in ein Reaktionsgefäß überführt und in 0,8 ml 5 Trizol-Puffer (Life Technologies) aufgenommen. Die Suspension wurde mit 0,2 ml Chloroform extrahiert. Nach 15minütiger Zentrifugation bei 12000 g wurde der wässrige Überstand abgenommen und in ein neues Reaktionsgefäß überführt und mit einem Volumen Ethanol extrahiert. Die RNA wurde mit einem Volumen Isopropanol 10 gefällt, mit 75 % Ethanol gewaschen und das Pellet in DEPC Wasser (über Nacht Inkubation von Wasser mit 1/1000 Volumen Diethylpyrocarbonat bei Raumtemperatur, anschließend autoklaviert) gelöst. Die RNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt.

15 Für die cDNA-Synthese wurden 2.5 µg Gesamt-RNA für 10 min bei 60°C denaturiert, für 2 min auf Eis abgekühlt und mittels eines cDNA-Kits (Ready-to-go-you-prime-beads, Pharmacia Biotech) nach Herstellerangaben unter Verwendung eines antisense spezifischen Primers (PR1 SEQ ID No. 29) in cDNA umgeschrieben.

20 Die Nukleinsäure codierend eine Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) wurde mittels polymerase chain reaction (PCR) aus *Haematococcus pluvialis* unter Verwendung eines sense spezifischen Primers (PR2 SEQ ID No. 30) und eines antisense 25 spezifischen Primers (PR1 SEQ ID No. 29) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der cDNA, die für ein Ketolase Protein 30 bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

-	4	µl	einer <i>Haematococcus pluvialis</i> cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
35	-	0,25 mM	dNTPs
-	0,2	mM	PR1 (SEQ ID No. 29)
-	0,2	mM	PR2 (SEQ ID No. 30)
-	5	µl	10X PCR-Puffer (TAKARA)
-	0,25	µl	R Taq Polymerase. (TAKARA)
40	-	25,8	µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

	1X	94°C	2 Minuten
45	35X	94°C	1 Minute
		53°C	2 Minuten
		72°C	3 Minuten

1X 72°C 10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 29 und SEQ ID No. 30 resultierte in einem 1155 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend
5 aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 22). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-Teasy (Promega) kloniert und der Klon pGKET02 erhalten.

- 10 Sequenzierung des Klons pGKET02 mit dem T7- und dem SP6-Primer bestätigte eine Sequenz, die sich lediglich in den drei Kodons 73, 114 und 119 in je einer Base von der publizierten Sequenz X86782 unterscheidet. Diese Nukleotidaustausche wurden in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert
15 und repräsentieren somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Haematococcus pluvialis* Stamm 192.80 (Abbildung 3 und 4, Sequenzvergleiche).

Dieser Klon wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380)
20 verwendet. Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 1027 Bp SphI-Fragmentes aus pGKET02 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der das *Haematococcus pluvialis* Ketolasegen in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit der rbcS Transitpeptidsequenz enthält, heißt
25 pJKET02.

Beispiel 2: Amplifikation einer cDNA, die die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille mit einem um 14
30 Aminosäuren verkürztem N-terminus kodiert

Die cDNA, die für die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) mit einem um 14 Aminosäuren verkürztem N-Terminus kodiert, wurde mittels PCR aus *Haematococcus pluvialis* Suspensionskultur (Stamm 192.80 der "Sammlung von Algenkulturen der
35 Universität Göttingen") amplifiziert.

Die Präparation von Total-RNA aus einer Suspensionskultur von *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) erfolgte wie in Beispiel 1 beschrieben.

40

Die cDNA-Synthese erfolgte wie unter Beispiel 1 beschrieben.

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) mit einem um 14 Aminosäuren verkürztem
45 N-Terminus wurde mittels polymerase chain reaction (PCR) aus *Haematococcus pluvialis* unter Verwendung eines sense spezifischen

Primers (PR3 SEQ ID No. 31) und eines antisense spezifischen Primers (PR1 SEQ ID No. 29) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

5

Die PCR zur Amplifikation der cDNA, die für ein Ketolase Protein mit um 14 Aminosäuren verkürztem N-Terminus kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- | | | | | |
|----|---|------|----|--|
| 10 | - | 4 | µl | einer <i>Haematococcus pluvialis</i> cDNA (hergestellt wie oben beschrieben) |
| | - | 0,25 | mM | dNTPs |
| | - | 0,2 | mM | PR1 (SEQ ID No. 29) |
| | - | 0,2 | mM | PR3 (SEQ ID No. 31) |
| 15 | - | 5 | µl | 10X PCR-Puffer (TAKARA) |
| | - | 0,25 | µl | R Taq Polymerase (TAKARA) |
| | - | 25,8 | µl | Aq. Dest. |

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

20

	1X	94°C	2 Minuten
	35X	94°C	1 Minute
		53°C	2 Minuten
		72°C	3 Minuten
25	1X	72°C	10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 29 und SEQ ID No. 31 resultierte in einem 1111 Bp Fragment, das für ein Ketolase Protein kodiert, bei dem N-terminalen Aminosäuren (Position 2-16) durch eine einzige Aminosäure (Leucin) ersetzt sind.

30

Das Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-Teasy (Promega) kloniert und der Klon pGKETO3 erhalten. Sequenzierungen mit den Primern T7- und SP6 bestätigten eine zur Sequenz SEQ ID No. 22 identische Sequenz, wobei die 5' Region (Position 1-53) der SEQ ID No. 22 im Amplifikat SEQ ID No. 24 durch eine in der Sequenz abweichende Nonamersequenz ersetzt wurde. Dieser Klon wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet.

40

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 985 Bp SpHI Fragmentes aus pGKETO3 und Ligierung mit dem SpHI geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der die *Haematococcus pluvialis* Ketolase mit einem um 14 Aminosäuren verkürztem N-Terminus in der korrekten

45

35

Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heißt pJKETO3.

Beispiel 3: Amplifikation einer cDNA, die die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* Flotow em. Wille (Stamm 192.80 der "Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen") bestehend aus der gesamten Primärsequenz und fusioniertem C-terminalem myc-Tag kodiert

Die cDNA, die für die Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) bestehend aus der gesamten Primärsequenz und fusioniertem C-terminalem myc-Tag kodiert, wurde mittels PCR unter Verwendung des Plasmids pGKETO2 (in Beispiel 1 beschrieben) und des Primers PR15 (SEQ ID No. 32) hergestellt. Der Primer PR15 setzt sich zusammen aus einer antisense spezifischen 3'-Region (Nucleotide 40-59) und einer myc-Tag kodierenden 5'-Region (Nucleotide 1-39).

Die Denaturierung (5 min bei 95°C) und Annealing (langsame Abkühlung bei Raumtemperatur auf 40°C) von pGKETO2 und PR15 erfolgte in einem 11,5 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 1 µg pGKETO2 PlasmidDNA
- 0,1 µg PR15 (SEQ ID No. 32)

Das Auffüllen der 3'-Enden (30 min bei 30°C) erfolgte in einem 20 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 11,5 µl pGKETO2/PR15-Annealingsreaktion (hergestellt wie oben beschrieben)
- 50 µM dNTPs
- 2 µl 1X Klenow Puffer
- 2U Klenow Enzym

Die Nukleinsäure kodierend eine Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* (Stamm 192.80) bestehend aus der gesamten Primärsequenz und fusioniertem C-terminalem myc-Tag wurde mittels polymerase chain reaction (PCR) aus *Haematococcus pluvialis* unter Verwendung eines sense spezifischen Primers (PR2 SEQ ID No. 30) und eines antisense spezifischen Primers (PR15 SEQ ID No. 32) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der cDNA, die für ein Ketolase Protein mit fusioniertem C-terminalem myc-Tag kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

36

- 1 µl einer Annealingsreaktion (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0,25 mM dNTPs
- 0,2 µM PR15 (SEQ ID No. 32)
- 5 - 0,2 µM PR2 (SEQ ID No. 30)
- 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0,25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28,8 µl Aq. Dest.

10 Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

	1X	94°C	2 Minuten
	35X	94°C	1 Minute
		53°C	1 Minute
		72°C	1 Minute
15	1X	72°C	10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 32 und SEQ ID No. 30 resultierte in einem 1032 Bp-Fragment, das für ein Protein kodiert, bestehend aus der gesamten Primärsequenz der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* als zweifache translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptide am N-Terminus und dem myc-Tag am C-Terminus.

Das Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-Teasy (Promega) kloniert und der Klon pGKETO4 erhalten. Sequenzierungen mit den Primern T7- und SP6 bestätigten eine zur Sequenz SEQ ID No. 22 identische Sequenz, wobei die 3' Region (Position 993-1155) der SEQ ID No. 22 im Amplifikat SEQ ID No. 26 durch eine in der abweichende Sequenz aus 39 Bp ersetzt wurde. Dieser Klon wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet.

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 1038 Bp EcoRI-SpHI Fragmentes aus pGKETO4 und Ligierung mit dem EcoRI-SpHI geschnittenen Vektor pJIT117. Durch die Ligation entsteht eine translationale Fusion zwischen dem C-Terminus der rbcS Transitpeptidsequenz und dem N-Terminus der Ketolase Sequenz. Der Klon, der die *Haematococcus pluvialis* Ketolase mit fusioniertem C-terminalem myc-Tag in der korrekten Orientierung als translationale N-terminale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heißt pJKET4.

Beispiel 4: Herstellung von Expressionsvektoren zur konstitutiven Expression der *Haematococcus pluvialis* Ketolase in *Lycopersicon esculentum*

37

Die Expression der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* in *L. esculentum* erfolgte unter Kontrolle des konstitutiven Promoters d35S aus CaMV (Franck et al. 1980, Cell 21: 285-294). Die Expression erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715).

Die Herstellung eines Expressionsplasmides für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

- Zur Herstellung des Expressionsvektors pS3KETO2 wurde das 2.8 Kb SacI-XhoI Fragment aus pJKETO2 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert (Abbildung 5, Konstruktkarte). In der Abbildung 5 beinhaltet Fragment d35S den duplizierten 35S Promoter (747 bp), Fragment rbcS das rbcS Transitpeptid aus Erbse (204 bp), Fragment KETO2 (1027 bp) die gesamte Primärsequenz kodierend für die *Haematococcus pluvialis* Ketolase, Fragment term (761 bp) das Polyadenylierungssignal von CaMV.

- Zur Herstellung des Expressionsvektors pS3KETO3 wurde das 2.7 Kb bp SacI-XhoI Fragment aus pJKETO3 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. (Abbildung 6, Konstruktkarte). In der Abbildung 6 beinhaltet Fragment d35S den duplizierten 35S Promoter (747 bp), Fragment rbcS das rbcS Transitpeptid aus Erbse (204 bp), Fragment KETO3 (985 bp) die um 14 N-terminale Aminosäuren verkürzte Primärsequenz kodierend für die *Haematococcus pluvialis* Ketolase, Fragment term (761 bp) das Polyadenylierungssignal von CaMV.

Zur Herstellung des Expressionsvektors pS3KETO4 wurde das 2.8 Kb SacI-XhoI Fragment aus pJKETO4 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. (Abbildung 7, Konstruktkarte). In der Abbildung 7 beinhaltet Fragment d35S den duplizierten 35S Promoter ((747 bp), Fragment rbcS das rbcS Transitpeptid aus Erbse (204 bp), Fragment KETO4 (1038 bp) die gesamte Primärsequenz codierend für die *Haematococcus pluvialis* Ketolase mit C-terminalem myc-Tag, Fragment term (761 bp) das Polyadenylierungssignal von CaMV.

Beispiel 5: Herstellung von Expressionsvektoren zur Expression der *Haematococcus pluvialis* Ketolase in *Lycopersicon esculentum*

Die Expression der Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* in *L. esculentum* erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle einer modifizierten Version AP3P des

38

Promoters AP3 aus *Arabidopsis thaliana* (AL132971: Nukleotidregion 9298-10200; Hill et al. (1998) Development 125: 1711-1721).

Das DNA Fragment, das die AP3 Promoterregion -902 bis +15 aus *Arabidopsis thaliana* beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung genomischer DNA (nach Standardmethoden aus *Arabidopsis thaliana* isoliert) sowie der Primer PR7 (SEQ ID No. 33) und PR10 (SEQ ID No. 36) hergestellt.

10 Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die das AP3-Promoterfragment (-902 bis +15) beinhaltet, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

15

- 100 ng genomischer DNA aus *A.thaliana*
- 0,25 mM dNTPs
- 0,2 mM PR7 (SEQ ID No. 33)
- 0,2 mM PR10 (SEQ ID No. 36)
- 20 - 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 0,25 µl Pfu Polymerase (Stratagene)
- 28,8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

25

1X	94°C	2 Minuten
35X	94°C	1 Minute
	50°C	1 Minute
	72°C	1 Minute

30

1X	72°C	10 Minuten
----	------	------------

Das 922 Bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pTAP3 erhalten.

35

Sequenzierung des Klons pTAP3 bestätigte eine Sequenz, die sich lediglich in durch eine Insertion (ein G in Position 9765 der Sequenz AL132971) und einen Basenaustausch (ein G statt ein A in Position 9726 der Sequenz AL132971) von der publizierten AP3 Sequenz (AL132971, Nukleotidregion 9298-10200) unterscheidet. Diese Nukleotidunterschiede wurden in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentieren somit die tatsächliche Nukleotidsequenz in den verwendeten *Arabidopsis thaliana* Pflanzen.

45

39

Die modifizierte Version AP3P wurde mittels rekombinanter PCR unter Verwendung des Plasmids pTAP3 hergestellt. Die Region 10200-9771 wurde mit den Primern PR7 (SEQ ID No. 33) und Primern PR9 (SEQ ID No. 35) amplifiziert (Amplifikat A7/9),
 5 die Region 9526-9285 wurde mit den PR8 (SEQ ID No. 34) und PR10 (SEQ ID No. 36) amplifiziert (Amplifikat A8/10).

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

10 Die PCR-Reaktionen zur Amplifikation der DNA-Fragmente, die die Regionen Region 10200-9771 und Region 9526-9285 des AP3 Promoters beinhalten, erfolgte in 50 µl Reaktionsansätzen, in denen enthalten war:

- 15 - 100 ng AP3 Amplifikat (oben beschrieben)
- 0,25 mM dNTPs
- 0,2 mM sense Primer (PR7 SEQ ID No. 33 bzw. PR8 SEQ ID No. 35)
- 0,2 mM antisense Primer (PR9 SEQ ID No. 35 bzw. PR10 SEQ ID No. 36)
- 20 - 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 0,25 µl Pfu Taq Polymerase (Stratagene)
- 28,8 µl Aq. Dest.

25 Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

	1X	94°C	2 Minuten
	35X	94°C	1 Minute
		50°C	1 Minute
30		72°C	1 Minute
	1X	72°C	10 Minuten

Die rekombinante PCR beinhaltet Annealing der sich über eine Sequenz von 25 Nukleotiden überlappenden Amplifikate A7/9 und
 35 A8/10, Vervollständigung zu einem Doppelstrang und anschließende Amplifizierung. Dadurch entsteht eine modifizierte Version des AP3 Promoters, AP3P, in dem die Positionen 9670-9526 deletiert sind. Die Denaturierung (5 min bei 95°C) und Annealing (langsame Abkühlung bei Raumtemperatur auf 40°C) beider Amplifikate A7/9
 40 und A8/10 erfolgte in einem 17.6 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 0,5 µg A7/9 Amplifikat
- 0,25 µg A8/10 Amplifikat

Das Auffüllen der 3'Enden (30 min bei 30°C) erfolgte in einem 20 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 5 - 17,6 µl A7/9 und A8/10-Annealingsreaktion (hergestellt wie oben beschrieben)
- 50 µM dNTPs
- 2 µl 1X Klenow Puffer
- 2U Klenow Enzym

10 Die Nukleinsäure, kodierend für die modifizierte Promoterversion AP3P, wurde mittels PCR unter Verwendung eines sense spezifischen Primers (PR7 SEQ ID No. 28) und eines antisense spezifischen Primers (PR10 SEQ ID No. 36) amplifiziert.

15 Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation des AP3P Fragmentes erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 20 - 1 µl Annealingsreaktion (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0,25 mM dNTPs
- 0,2 mM PR7 (SEQ ID No. 33)
- 0,2 mM PR10 (SEQ ID No. 36)
- 25 - 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 0,25 µl Pfu Taq Polymerase (Stratagene)
- 28,8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

30	1X	94°C	2 Minuten
	35X	94°C	1 Minute
		50°C	1 Minute
		72°C	1 Minute
35	-1X	72°C	10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 33 und SEQ ID No. 36 resultierte in einem 778 Bp Fragment, das für die modifizierte Promoterversion AP3P kodiert. Das Amplifikat wurde in den Klonierungsvektor pCR2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pTAP3P erhalten. Sequenzierungen mit den Primern T7 und M13 bestätigten eine zur Sequenz AL132971, Region 10200-9298 identische Sequenz, wobei die interne Region 9285-9526 deletiert wurde. Diese Klon wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJIT117 (Guerineau et al. 1988, Nucl. Acids Res. 16: 11380) verwendet.

41

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 771 Bp SacI-HindIII Fragmentes aus pTAP3P und Ligierung in den SacI-HindIII geschnittenen Vektor pJIT117. Der Klon, der den Promoter AP3P anstelle des ursprünglichen Promoters d35S enthält, heißt pJAP3P.

5

Zur Herstellung einer Expressionskassette pJAP3PKETO2 wurde das 1027 Bp SpHI-Fragment KETO2 (in Beispiel 1 beschrieben) in den SpHI geschnittenen Vektor pJAP3P kloniert. Der Klon, der das Fragment KETO2 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heißt pJAP3PKETO2.

10

Zur Herstellung einer Expressionskassette pJAP3PKETO4 wurde das 1032 Bp SpHI-EcoRI Fragment KETO4 (in Beispiel 3 beschrieben) in den SpHI-EcoRI geschnittenen Vektor pJAP3P kloniert. Der Klon, der das Fragment KETO4 in der korrekten Orientierung als N-terminale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heißt pJAP3PKETO4.

15

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der AP3P-kontrollierten Ketolase aus *Haematococcus pluvialis* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

20

- Zur Herstellung des Expressionsvektors pS3AP3PKETO2 wurde das 2.8 KB bp SacI-XhoI Fragment aus pJAP3PKETO2 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert (Abbildung 8, Konstruktkarte). In der Abbildung 8 beinhaltet Fragment AP3P den modifizierten AP3P Promoter (771 bp), Fragment *rbcS* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (204 bp), Fragment KETO2 (1027 bp) die gesamte Primärsequenz codierend für die *Haematococcus pluvialis* Ketolase, Fragment *term* (761 Bp) das Polyadenylierungssignal von CaMV.

25

30

- Zur Herstellung des Expressionsvektors pS3AP3PKETO4 wurde das 2.8 KB SacI-XhoI Fragment aus pJAP3PKETO4 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert. (Abbildung 9, Konstruktkarte). In der Abbildung 9 beinhaltet Fragment AP3P den modifizierten AP3P Promoter (771 bp), Fragment *rbcS* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (204 bp), Fragment KETO4 (1038 bp) die gesamte Primärsequenz codierend für die *Haematococcus pluvialis* Ketolase mit C-terminalem myc-Tag, Fragment *term* (761 Bp) das Polyadenylierungssignal von CaMV.

35

40

Beispiel 6: Herstellung transgener *Lycopersicon esculentum* Pflanzen

45

Transformation und Regeneration von Tomatenpflanzen erfolgte nach der publizierten Methode von Ling und Mitarbeitern (Plant Cell Reports (1998), 17:843-847). Für die Varietät Microtom wurde mit höherer Kanamycin-Konzentration (100mg/L) selektioniert.

5

- Als Ausgangsexplantat für die Transformation dienten Kotyledonen und Hypokotyle sieben bis zehn Tage alter Keimlinge der Linie Microtom. Für die Keimung wurde das Kulturmedium nach Murashige und Skoog (1962: Murashige and Skoog, 1962, Physiol. Plant 15, 473-) mit 2 % Saccharose, pH 6,1 verwendet. Die Keimung fand bei 21°C bei wenig Licht (20 bis 100 µE) statt. Nach sieben bis zehn Tagen wurden die Kotyledonen quer geteilt und die Hypokotyle in ca. 5 bis 10 mm lange Abschnitte geschnitten und auf das Medium MSBN (MS, pH 6,1, 3 % Saccharose + 1 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA) gelegt, das am Vortag mit suspensionskultivierten Tabakzellen beschickt wurde. Die Tabakzellen wurden luftblasenfrei mit sterilem Filterpapier abgedeckt. Die Vorkultur der Explantate auf dem beschriebenen Medium erfolgte für drei bis fünf Tage. Zellen des Stammes Agrobakterium tumefaciens LBA4404 wurden einzeln mit den Plasmiden pS3KETO2, pS3KETO3 bzw. pS3AP3KETO2 transformiert. Von den einzelnen mit den Binaervektoren pS3KETO2, pS3KETO3 bzw. pS3KETO2 transformierten Agrobakterium-Stämmen wurde jeweils eine Übernachtskultur in YEB Medium mit Kanamycin (20 mg/l) bei 28 Grad Celsius kultiviert und die Zellen zentrifugiert. Das Bakterien-pellet wurde mit flüssigem MS Medium (3 % Saccharose, pH 6,1) resuspendiert und auf eine optische Dichte von 0,3 (bei 600 nm) eingestellt. Die vorkultivierten Explantate wurden in die Suspension überführt und für 30 Minuten bei Zimmertemperatur unter leichtem Schütteln inkubiert. Anschließend wurden die Explantate mit sterilem Filterpapier getrocknet und für die dreitägige Co-Kultur (21°C) auf ihr Vorkulturmedium zurück gelegt.

- Nach der Co-kultur wurden die Explantate auf MSZ2 Medium (MS pH 6,1 + 3 % Saccharose, 2 mg/l Zeatin, 100 mg/l Kanamycin, 160 mg/l Timentin) transferiert und für die selektive Regeneration bei 21°C unter Schwachlicht Bedingungen (20 bis 100 µE, Lichtrhythmus 16 h / 8 h) aufbewahrt. Alle zwei bis drei Wochen erfolgte der Transfer der Explantate bis sich Sprosse bildeten. Kleine Sprosse konnten vom Explantat abgetrennt werden und auf MS (pH 6,1 + 3 % Saccharose) 160 mg/l Timentin, 30 mg/l Kanamycin, 0,1 mg/l IAA bewurzelt werden. Bewurzelte Pflanzen wurden ins Gewächshaus überführt.

43

Gemäß der oben beschriebenen Transformationsmethode wurden mit folgenden Expressionskonstrukten folgende Linien erhalten:

Mit pS3KETO2 wurde erhalten: cs13-24, cs13-30, cs13-40.

5

Mit pS3KETO3 wurde erhalten: cs14-2, cs14-3, cs14-9, cs14-19.

Mit pS3AP3PKETO2 wurde erhalten: cs16-15, cs16-34, cs16-35, cs16-40.

10

Beispiel 8: Charakterisierung der transgenen Früchte

Das Fruchtmaterial der transgenen Pflanzen wurde in flüssigem Stickstoff gemörserst und das Pulver (etwa 250 bis 500 mg) mit 100 % Aceton extrahiert (dreimal je 500 µl). Das Lösungsmittel wurde evaporiert und die Carotinoide in 100 µl Aceton resuspendiert.

Mittels einer C30-Reverse phase-Säule konnte zwischen Mono- und Diestern der Carotinoide unterschieden werden. HPLC-Laufbedingungen wurden modifiziert nach einer publizierten Methode (Frazer et al. (2000), Plant Journal 24(4): 551-558). Folgende HPLC-Bedingungen wurden eingestellt.

25 Trennsäule: ProntoSIL C30-Säule, 250 x 4,6 mm, (Bischoff, Leonberg, Germany)

Flussrate: 1.0 ml/min

Eluenten: Laufmittel A - 100% Methanol

Laufmittel B - 80% Methanol, 0.2% Ammoniumacetat

Laufmittel C - 100% t-Butyl-methylether

30

Gradientenprofil:

Zeit	Flussrate	% Laufmittel A	% Laufmittel B	% Laufmittel C
1.00	1.0	95.0	5.0	0
12.00	1.0	95.0	5.0	0
12.10	1.0	80.0	5.0	15.0
22.00	1.0	76.0	5.0	19.0
22.10	1.0	66.5	5.0	28.5
38.00	1.0	15.0	5.0	80.0
45.00	1.0	95.0	5.0	0
46.0	1.0	95.0	5.0	0

Detektion: 300 - 530 nm

45

Die Spektren wurden unter Verwendung eines Photodiodenarray-Detektors bestimmt. Die Carotinoide wurden über ihre Absorptions-

spektren und ihre Retentionszeiten im Vergleich zu Standardproben identifiziert.

Tabelle 1 zeigt das Carotinoidprofil in Tomatenfrüchten der gemäß der vorstehend beschriebenen Beispiele hergestellten transgenen Tomaten und Kontrolltomatenpflanzen. Im Vergleich zur genetisch nicht veränderten Kontrollpflanze weisen die genetisch veränderten Pflanzen einen Gehalt an Ketocarotinoiden und insbesondere einen Gehalt an Astaxanthin auf.

Tabelle 1

Pflanze	Lutein	Lycopin	beta-Carotin	Cryptoxanthin	Canthaxanthin	Adonirubin	Astaxanthin
Kontrolle	+	+	+	(+)	-	-	-
Kontrolle	+	+	+	(+)	-	-	-
CS13-24	-	+	+	(+)	+	+	+
CS13-30	-	+	+	(+)	+	+	+
CS13-40	-	+	+	(+)	+	+	+
CS14-2	-	+	+	(+)	+	+	+
CS14-3	-	+	+	-	+	+	+
CS14-9	-	+	+	(+)	+	+	+
CS14-19	-	+	+	-	+	+	+
CS16-15	-	+	+	(+)	+	+	+
CS16-34	-	+	+	(+)	+	+	+
CS16-35	-	+	+	-	+	+	+
CS16-40	-	+	(+)	(+)	+	+	+

+ bedeutet Carotinoid nachweisbar

- bedeutet Carotinoid nicht detektiert

(+) bedeutet Carotinoidkonzentration an der Nachweisgrenze

Tabelle 2a zeigt die Carotinoidmengen in reifen Früchten von transgenen Tomaten und Kontrollpflanzen. Die Angaben sind Mittelwerte verschiedener Linien und in Prozent des Gesamtcarotinoidgehalt angegeben.

Promoter used	Lycopene	Beta-carotene	Lutein	Canthaxanthin	Adonirubin	Astaxanthin	Zeaxanthin
Control plants	80.5	14.4	2.8				0.2
CS16	84	9.4	0.3	0.5	0.2	5.0	0.3
CS13	78	16.5	2.8	0.3	0.2	6.1	

Tabelle 2b zeigt die Carotinoidmengen in reifenden Früchten von transgenen Tomaten und Kontrollpflanzen. Die Angaben sind Mittelwerte verschiedener Linien und in Prozent des Gesamtcarotinoidgehalt angegeben.

Promoter used	Lycopene	Beta-carotene	Lutein	Canthaxanthin	Adonirubin	Astaxanthin	Zeaxanthin
Control plants	59	28.4	9				0.3
5 CS16	61	22.3	5.2	1.6	3.1	3.9	2.5
CS13	52	19.5	5.4	1.2	4.7	6.1	

Beispiel 9:

- 10 Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert

Die DNA, die für die NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") amplifiziert.

Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1.5 g/l NaNO₃, 0.04 g/l K₂PO₄·3H₂O, 0.075 g/l MgSO₄·xH₂O, 0.036 g/l CaCl₂·2H₂O, 0.006 g/l citric acid, 0.006 g/l Ferric ammonium citrate, 0.001 g/l EDTA disodium magnesium, 0.04 g/l Na₂CO₃, 1ml Trace Metal Mix "A5+Co" (2.86 g/l H₃BO₃, 1.81 g/l MnCl₂·4H₂O, 0.222 g/l ZnSO₄·7H₂O, 0.39 g/l NaMoO₄·2H₂O, 0.079 g/l CuSO₄·5H₂O, 0.0494 g/l Co(NO₃)₂·6H₂O) gewachsen war, wurden die Zellen durch Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert.

- 30 Protokoll für die DNA-Isolation aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133:

Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10 minütige Zentrifugation bei 8000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem Stickstoff mit einem Mörser zerstossen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 10mM Tris_HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13 000 upm wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5.2) und 0.6 Volumen Iso-
45 propanol gefällt und anschließend mit 70% Ethanol gewaschen. Das

46

DNA-Pellet wurde bei Raumtemperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C gelöst.

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NP196-1, SEQ ID No. 59) und eines antisense-spezifischen Primers (NP196-2 SEQ ID No. 60) amplifiziert.

10 Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

15

- 1 µl einer *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM NP196-1 (SEQ ID No. 59)
- 20 - 0.2 mM NP196-2 (SEQ ID No. 60)
- 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 µl Aq. Dest.

25 Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X	94°C	2 Minuten
35X	94°C	1 Minute
	55°C	1 Minuten
30	72°C	3 Minuten
1X	72°C	10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 59 und SEQ ID No. 60 resultierte in einem 792 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend

35 aus der gesamten Primärsequenz kodiert (NP196, SEQ ID No. 61).

Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pNP196 erhalten.

40 Sequenzierung des Klons pNP196 mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 140.571-139.810 des Datenbank-eintrages NZ_AABC01000196 identisch ist (inverse orientiert zum veröffentlichen Datenbankeintrag) mit der Ausnahme, daß G in Position 140.571 durch A ersetzt wurde, um
45 ein Standard-Startkodon ATG zu erzeugen. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert

und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc punctiforme* ATCC 29133.

Dieser Klon pNP196 wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJAP3P (in Beispiel 5 beschrieben) verwendet.

pJAP3P wurde modifiziert, indem der 35S-Terminator durch den OCS-Terminator (Octopine Synthase) des Ti-Plasmides pTi15955 von *Agrobacterium tumefaciens* (Datenbankeintrag X00493 von Position 12,541-12,350, Gielen et al. (1984) EMBO J. 3 835-846) ersetzt wurde.

Das DNA-Fragment, das die OCS-Terminatorregion beinhaltet, wurde mittels PCR unter Verwendung des Plasmides pHELLSGATE (Datenbankeintrag AJ311874, Wesley et al. (2001) Plant J. 27 581-590, nach Standardmethoden aus *E.coli* isoliert) sowie der Primer OCS-1 (SEQ ID No. 63) und OCS-2 (SEQ ID No. 64) hergestellt.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

20

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die die Octopin Synthase (OCS) Terminatorregion (SEQ ID 65) beinhaltet, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten waren:

- 25 - 100 ng pHELLSGATE plasmid DNA
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM OCS-1 (SEQ ID No. 63)
- 0.2 mM OCS-2 (SEQ ID No. 64)
- 5 µl 10X PCR-Puffer (Stratagene)
- 30 - 0.25 µl Pfu Polymerase (Stratagene)
- 28.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

35	1X	94°C	2 Minuten
	35X	94°C	1 Minute
		50°C	1 Minute
		72°C	1 Minute
	1X	72°C	10 Minuten

40

Das 210 bp Amplifikat wurde unter Verwendung von Standardmethoden in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und das Plasmid pOCS erhalten.

45

Sequenzierung des Klons pOCS bestätigte eine Sequenz, die mit einem Sequenzabschnitt auf dem Ti-Plasmid pTi15955 von *Agrobacterium tumefaciens* (Datenbankeintrag X00493) von Position 12.541 bis 12.350 übereinstimmt.

5

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 210 bp SalI-XhoI Fragmentes aus pOCS und Ligierung in den SalI-XhoI geschnittenen Vektor pJAP3P.

- 10 Dieser Klon heisst pJOAP und wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJOAP:NP196 verwendet.

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 782 Bp SphI-Fragmentes aus pNP196 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor

- 15 pJOAP. Der Klon, der die NP196-Ketolase von *Nostoc punctiforme* in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJOAP:NP196.

Beispiel 10:

20

Herstellung von Expressionsvektoren zur fruchtspezifischen Ueberexpression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") in *Lycopersicon esculentum*

- 25 Die Expression der NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* in *L. esculentum* erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle des Promoters AP3P aus *Arabidopsis thaliana* (in Beispiel 5 beschrieben).

30

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der AP3P-kontrollierten NP196-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

35

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP120 wurde das 1.958 KB bp SacI-XhoI Fragment aus pJOAP:NP196 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert (Abbildung 10, Konstruktkarte). In der Abbildung 10 beinhaltet Fragment AP3P PROM den AP3P Promoter

- 40 (765 bp), Fragment rbcS TP FRAGMENT das rbcS Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP196 KETO CDS (761 bp), kodierend für die *Nostoc punctiforme* NP196-Ketolase, Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

45

Beispiel 11:

Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NOST-Ketolase aus *Nostoc spp.* PCC 7120 codiert

5

Die DNA, die für die NOST-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* PCC 7120 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc* PCC 7120 (Stamm der "Pasteur Culture Collection of Cyanobacterium") amplifiziert.

- 10 Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von aus *Nostoc spp.* PCC 7120, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1.5 g/l NaNO_3 , 0.04 g/l $\text{K}_2\text{PO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$, 0.075 g/l $\text{MgSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, 0.036 g/l $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 0.006 g/l citric acid, 0.006 g/l Ferric ammonium citrate, 0.001 g/l EDTA disodium magnesium, 0.04 g/l Na_2CO_3 , 1ml Trace Metal Mix "A5+Co" (2.86 g/l H_3BO_3 , 1.81 g/l $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, 0.222 g/l $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 0.39 g/l $\text{NaMoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 0.079 g/l $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, 0.0494 g/l $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$) gewachsen war, wurden die Zellen durch Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und
- 20 im Mörser pulverisiert.

Protokoll für die DNA-Isolation aus aus *Nostoc spp.* PCC 7120:

- Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10
- 25 minütige Zentrifugation bei 8000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem Stickstoff mit einem Mörser zerstoßen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 10mM Tris_HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von
- 30 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13 000 upm wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion
- 35 mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5.2) und 0.6 Volumen Iso-propanol gefällt und anschließend mit 70% Ethanol gewaschen. Das DNA-Pellet wurde bei Raumtemperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C gelöst.

40

- Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc* PCC 7120, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc* PCC 7120 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NOST-1, SEQ ID No. 66) und eines antisense-spezifischen Primers (NOST-2
- 45 SEQ ID No. 67) amplifiziert.

50

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in 5 einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 1 ul einer *Nostoc* PCC 7120 DNA (hergestellt wie in Beispiel 9 beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 10 - 0.2 mM NOST-1 (SEQ ID No. 66)
- 0.2 mM NOST-2 (SEQ ID No. 67)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 ul Aq. Dest.

15

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

1X	94°C	2 Minuten
35X	94°C	1 Minute
20	55°C	1 Minuten
	72°C	3 Minuten
1X	72°C	10 Minuten

Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 66 und SEQ ID No. 67 resultierte in einem 809 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 68). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-T (Promega) kloniert und der Klon pNOST erhalten.

30

Sequenzierung des Klons pNOST mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz des Datenbankeintrages AP003592 identisch ist. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und 35 repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nostoc* PCC 7120.

Dieser Klon pNOST wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJOAP (in Beispiel 9 beschrieben) verwendet.

40

Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 799 Bp SphI-Fragmentes aus pNOST und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJOAP. Der Klon, der die NOST-Ketolase von *Nostoc* PCC7120 in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit 45 dem *rbcS* Transitpeptid enthält, heisst pJOAP:NOST

Beispiel 12:

Herstellung von Expressionsvektoren zur fruchtspezifischen Ueberexpression der NOST-Ketolase aus *Nostoc spp. PCC 7120* in
 5 *Lycopersicon esculentum*.

Die Expression der NOST-Ketolase aus *Nostoc spp. PCC 7120* in *L. esculentum* erfolgte mit dem Transitpeptid *rbcS* aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte
 10 unter Kontrolle des Promoters AP3P aus *Arabidopsis thaliana* (in Beispiel 5 beschrieben).

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der AP3P-kontrollierten NOST-Ketolase
 15 aus *Nostoc spp. PCC 7120* in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP121 wurde das 1.982 KB bp *SacI*-*XhoI* Fragment aus pJOAP:NOST mit dem *SacI*-*XhoI* geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert (Abbildung 11, Konstruktkarte). In
 20 der Abbildung 11 beinhaltet Fragment AP3P PROM den AP3P Promoter (765 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NOST KETO CDS (774 bp), kodierend für die *Nostoc spp. PCC 7120* NOST-Ketolase, Fragment OCS Terminator
 25 (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 13:

Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der
 30 NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 codiert

Die DNA, die für die NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") amplifiziert. Die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 wurde in Beispiel 9
 35 beschrieben.

Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NP195-1, SEQ ID No. 70) und eines antisense-spezifischen Primers (NP195-2 SEQ ID No. 71) amplifiziert.
 40

45 Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

52

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 5 - 1 ul einer *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 DNA (hergestellt wie in Beispiel 9 beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 mM NP195-1 (SEQ ID No. 70)
- 0.2 mM NP195-2 (SEQ ID No. 71)
- 10 - 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul R Taq Polymerase (TAKARA)
- 25.8 ul Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

15	1X	94°C	2 Minuten
	35X	94°C	1 Minute
		55°C	1 Minuten
		72°C	3 Minuten
20	1X	72°C	10 Minuten

- Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 70 und SEQ ID No. 71 resultierte in einem 819 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (SEQ ID No. 72). Unter
- 25 Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pGEM-T (Promega) kloniert und der Klon pNP195 erhalten.

- Sequenzierung des Klons pNP195 mit dem M13F- und dem M13R-Primer
- 30 bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 55,604-56,392 des Datenbank-eintrages NZ_AABC010001965 identisch ist, mit der Ausnahme, daß T in Position 55.604 durch A ersetzt wurde, um ein Standard-Startkodon ATG zu erzeugen. Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz
- 35 im verwendeten *Nostoc punctiforme* ATCC 29133.

- Dieser Klon pNP195 wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJOAP (in Beispiel 9 beschrieben) verwendet.

- 40 Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 709 Bp SphI-Fragmentes aus pNP195 und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor pJOAP. Der Klon, der die NP195-Ketolase von *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst
- 45 pJOAP:NP195.

Beispiel 14:

Herstellung von Expressionsvektoren zur fruchtspezifischen Ueberexpression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133
5 in *Lycopersicon esculentum*

Die Expression der NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 (Stamm der "American Type Culture Collection") in *L. esculentum* erfolgte mit dem Transitpeptid *rbcS* aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter
10 Kontrolle des Promoters AP3P aus *Arabidopsis thaliana* (in Beispiel 5 beschrieben).

Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-
15 vermittelte Transformation der AP3P-kontrollierten NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP122 wurde das 1.992 KB
20 bp SacI-XhoI Fragment aus pJOAP:NP195 mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert (Abbildung 12, Konstruktkarte). In der Abbildung 12 beinhaltet Fragment AP3P PROM den AP3P Promoter (765 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment NP195 KETO CDS (789 bp), kodierend für
25 die *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 NP195-Ketolase, Fragment OCS Terminator (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

Beispiel 15:

30

Amplifikation einer DNA, die die gesamte Primärsequenz der NODK-Ketolase aus *Nodularia spumignea* NSOR10 codiert.

Die DNA, die für die Ketolase aus *Nodularia spumignea* NSOR10 kodiert, wurde mittels PCR aus *Nodularia spumignea* NSOR10 amplifi-
35 ziert.

Für die Präparation von genomischer DNA aus einer Suspensionskultur von *Nodularia spumignea* NSOR10, die 1 Woche mit Dauerlicht und konstantem Schütteln (150 rpm) at 25°C in BG 11-Medium (1.5
40 g/l NaNO₃, 0.04 g/l K₂PO₄·3H₂O, 0.075 g/l MgSO₄·xH₂O, 0.036 g/l CaCl₂·2H₂O, 0.006 g/l citric acid, 0.006 g/l Ferric ammonium citrate, 0.001 g/l EDTA disodium magnesium, 0.04 g/l Na₂CO₃, 1ml Trace Metal Mix "A5+Co" (2.86 g/l H₃BO₃, 1.81 g/l MnCl₂·4H₂O, 0.222 g/l ZnSO₄·7H₂O, 0.39 g/l NaMoO₄·2H₂O, 0.079 g/l CuSO₄·5H₂O,
45 0.0494 g/l Co(NO₃)₂·6H₂O) gewachsen war, wurden die Zellen durch

54

Zentrifugation geerntet, in flüssigem Stickstoff eingefroren und im Mörser pulverisiert.

Protokoll für die DNA-Isolation aus *Nodularia spumignea* NSOR10 :

- 5 Aus einer 10 ml Flüssigkultur wurden die Bakterienzellen durch 10 minütige Zentrifugation bei 8000 rpm pelletiert. Anschließend wurden die Bakterienzellen in flüssigem Stickstoff mit einem Mörser zerstoßen und gemahlen. Das Zellmaterial wurde in 1 ml 10mM
- 10 Tris_HCl (pH 7.5) resuspendiert und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß (2ml Volumen) überführt. Nach Zugabe von 100 µl Proteinase K (Konzentration: 20 mg/ml) wurde die Zellsuspension für 3 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde die Suspension mit 500 µl Phenol extrahiert. Nach 5minütiger Zentrifugation bei 13 000 upm
- 15 wurde die obere, wässrige Phase in ein neues 2 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Die Extraktion mit Phenol wurde 3mal wiederholt. Die DNA wurde durch Zugabe von 1/10 Volumen 3 M Natriumacetat (pH 5.2) und 0.6 Volumen Isopropanol gefällt und anschließend mit 70% Ethanol gewaschen. Das DNA-Pellet wurde bei Raumtemperatur getrocknet, in 25 µl Wasser aufgenommen und unter Erhitzung auf 65°C gelöst.

- Die Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase aus *Nodularia spumignea* NSOR10, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus *Nodularia spumignea* NSOR10 unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (NODK-1, SEQ ID No. 74) und eines antisense-spezifischen Primers (NODK-2 SEQ ID No. 75) amplifiziert.

Die PCR-Bedingungen waren die folgenden:

- 30 Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein Ketolase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 µl Reaktionsansatz, in dem enthalten war:
- 35 - 1 µl einer *Nodularia spumignea* NSOR10 DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
 - 0.2 mM NODK-1 (SEQ ID No. 74)
 - 0.2 mM NODK-2 (SEQ ID No. 75)
- 40 - 5 µl 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 µl R Taq Polymerase (TAKARA)
 - 25.8 µl Aq. Dest.

Die PCR wurde unter folgenden Zyklusbedingungen durchgeführt:

- 45
- | | | |
|-----|------|-----------|
| 1X | 94°C | 2 Minuten |
| 35X | 94°C | 1 Minute |

55

	55°C	1 Minuten
	72°C	3 Minuten
1X	72°C	10 Minuten

- 5 Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 74 und SEQ ID No. 75 resultierte in einem 720 Bp-Fragment, das für ein Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert (NODK, SEQ ID No. 76). Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon
- 10 pNODK erhalten.

- Sequenzierung des Klons pNODK mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 2130-2819 des Datenbank-eintrages AY210783 identisch ist (inverse orientiert zum veröffentlichen Datenbankeintrag). Diese Nukleotidsequenz wurde in einem unabhängigen Amplifikationsexperiment reproduziert und repräsentiert somit die Nukleotidsequenz im verwendeten *Nodularia spumignea* NSOR10.
- 15

- 20 Dieser Klon pNODK wurde daher für die Klonierung in den Expressionsvektor pJOAP (in Beispiel 9 beschrieben) verwendet.

- Die Klonierung erfolgte durch Isolierung des 710 Bp SphI-Fragmentes aus pNODK und Ligierung in den SphI geschnittenen Vektor
- 25 pJOAP. Der Klon, der die NODK-Ketolase von *Nodularia spumignea* NSOR10 in der korrekten Orientierung als N-terminale translationale Fusion mit dem rbcS Transitpeptid enthält, heisst pJOAP:NODK.

- 30 Beispiel 16:

Herstellung von Expressionsvektoren zur fruchtspezifischen Ueberexpression der NODK-Ketolase aus *Nodularia spumignea* NSOR10 in *Lycopersicon esculentum*.

35

- Die Expression der NODK-Ketolase aus *Nodularia spumignea* NSOR10 in *L. esculentum* erfolgte mit dem Transitpeptid rbcS aus Erbse (Anderson et al. 1986, Biochem J. 240:709-715). Die Expression erfolgte unter Kontrolle des Promoters AP3P aus *Arabidopsis thaliana* (in Beispiel 5 beschrieben).
- 40

- Die Herstellung eines Expressionsvektors für die Agrobacterium-vermittelte Transformation der AP3P-kontrollierten NP195-Ketolase aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 in *L. esculentum* erfolgte unter
- 45 der Verwendung des binären Vektors pSUN3 (WO02/00900).

Zur Herstellung des Expressionsvektors MSP123 wurde das 1.893 KB bp SacI-XhoI Fragment aus pJOAP:NODK mit dem SacI-XhoI geschnittenen Vektor pSUN3 ligiert (Abbildung 13, Konstruktkarte). In der Abbildung 13 beinhaltet Fragment AP3P PROM den AP3P Promoter (765 bp), Fragment *rbcS TP FRAGMENT* das *rbcS* Transitpeptid aus Erbse (194 bp), Fragment *NODK KETO CDS* (690 bp), kodierend für die *Nodularia spumigena* NSOR10 NODK-Ketolase, Fragment *OCS Terminator* (192 bp) das Polyadenylierungssignal von Octopin-Synthase.

- 10 Beispiel 17: Herstellung einer Expressionskassette zur fruchtspezifischen Ueberexpression der chromoplastenspezifischen β -Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum*.

Die Expression der chromoplastenspezifischen β -Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum* in Tomate erfolgt unter Kontrolle des fruchtspezifischen Promoters AP3P aus Arabidopsis (Beispiel 2). Als Terminatorelement wird LB3 (Datenbank-eintrages AX696005) aus *Vicia faba* verwendet. Die Sequenz der chromoplastenspezifischen β -Hydroxylase (Datenbank-eintrages Y14810 & BE354440) wurde durch RNA Isolierung, reverse Transkription und PCR hergestellt.

Das DNA-Fragment, das die LB3-Terminatorregion beinhaltet, wurde mittels PCR isoliert.

- 25 Genomische DNA aus *Vicia faba*-Gewebe nach Standardmethoden wird isoliert und durch genomische PCR unter Verwendung der Primer PR206 (SEQ ID No. 78) und PR207 (SEQ ID No. 79) eingesetzt. Die PCR zur Amplifikation dieses LB3 DNA-Fragmentes, erfolgt in einem 50 μ l Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:

30

- 1 μ l genomische DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 μ M PR206 (SEQ ID No. 78)
- 0.2 μ M PR207 (SEQ ID No. 79)

35

- 5 μ l 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 μ l. R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28.8 μ l. Aq. Dest.

- Die PCR-Amplifikation mit SEQ ID No. 78 und SEQ ID No. 79 resultiert in einem 307 bp Fragment (SEQ ID No. 80) das für den LB-Terminator enthaelt. Unter Verwendung von Standardmethoden wurde das Amplifikat in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert und der Klon pLB3 erhalten. Sequenzierung des Klons pLB3 mit dem M13F- und dem M13R-Primer bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 3-298 des Datenbank-eintrages AX696005

identisch ist. Dieser Klon heisst pLB3 und wird daher für die Klonierung in den Vektor pJAP3P (siehe Beispiel 5) verwendet.

Die Expressionskassette pJAP3P wurde modifiziert, indem der 35S-Terminator durch den Legumin LB3-Terminator des *Vicia faba* (Datenbankeintrag AX696005; W003/008596) ersetzt wurde (siehe unten).

Für die Herstellung der β -Hydroxylase-Sequenz wird Total-RNA aus Tomate präpariert. Dazu werden 100mg der gefrorenen, pulverisierten Blüten in ein Reaktionsgefäß überführt und in 0.8 ml Trizol-Puffer (LifeTechnologies) aufgenommen. Die Suspension wird mit 0.2 ml Chloroform extrahiert. Nach 15 minütiger Zentrifugation bei 12 000 g wird der wässrige Überstand abgenommen und in ein neues Reaktionsgefäß überführt und mit einem Volumen Ethanol extrahiert. Die RNA wird mit einem Volumen Isopropanol gefällt, mit 75% Ethanol gewaschen und das Pellet in DEPC Wasser (über Nacht Inkubation von Wasser mit 1/1000 Volumen Diethylpyrocarbonat bei Raumtemperatur, anschließend autoklaviert) gelöst. Die RNA-Konzentration wird photometrisch bestimmt. Für die cDNA-Synthese werden 2.5 μ g Gesamt-RNA für 10 min bei 60°C denaturiert, für 2 min auf Eis abgekühlt und mittels eines cDNA-Kits (Ready-to-go-you-prime-beads, Pharmacia Biotech) nach Herstellerangaben unter Verwendung eines antisense spezifischen Primers (PR215 SEQ ID No. 56) in cDNA umgeschrieben.

Die Bedingungen der anschließenden PCR-Reaktionen sind die folgenden:

Die Nukleinsäure, kodierend die β -Hydroxylase kodiert, wurde mittels "polymerase chain reaction" (PCR) aus Tomate unter Verwendung eines sense-spezifischen Primers (VPR204, SEQ ID No. 81) und eines antisense-spezifischen Primers (PR215 SEQ ID No. 82) amplifiziert.

35

Die PCR zur Amplifikation der DNA, die für ein β -Hydroxylase Protein bestehend aus der gesamten Primärsequenz kodiert, erfolgte in einem 50 μ l Reaktionsansatz, in dem enthalten war:

- 40 - 1 μ l cDNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.25 mM dNTPs
- 0.2 μ M VPR204 (SEQ ID No. 81)
- 0.2 μ M PR215 (SEQ ID No. 82)
- 5 μ l 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 45 - 0.25 μ l R Taq Polymerase (TAKARA)
- 28.8 μ l Aq. Dest.

Die PCR-Amplifikation mit VPR204 und PR215 resultiert in einem 1.040 bp Fragment (SEQ ID No. 83) das für die b-Hydroxylase codiert. Das Amplifikat wird in den PCR-Klonierungsvektor pCR 2.1 (Invitrogen) kloniert. Dieser Klon heisst pCrtR-b2.

5

Sequenzierungen des Klons pCrtR-b2 mit den Primern M13-R und M13-R bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 33-558 des Datenbank-eintrages BE354440 identisch ist und mit der DNA-Sequenz von 1-1009 des Datenbank-eintrages Y14810 identisch ist. Der Klon pCrtR-b2 wird daher für die Klonierung in den Vektor pCSP02 verwendet (siehe unten).

Der erste Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 1.034 bp HindIII-EcoRI Fragmentes aus pCrtR-b2, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-2.1 (Invitrogen), und Ligierung mit dem HindIII-EcoRI geschnittenen Vektor pJAP3P (siehe Beispiel 5). Der Klon, der das b-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2 enthält, heisst pCSP02.

Der zweite Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 301bp EcoRI-XhoI Fragmentes aus pLB3, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR-2.1 (Invitrogen), und Ligierung mit dem EcoRI-XhoI geschnittenen Vektor pCSP02. Der Klon, der den 296 bp Terminator LB3 enthält, heisst pCSP03. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem Terminator LB3 und dem b-Hydroxylase-Fragment CrtR-b2. Zudem entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem AP3P Promoter und dem b-Hydroxylase-Fragment.

Beispiel 18: Herstellung einer Expressionskassette zur fruchtspezifischen Ueberexpression des B-Genes aus *Lycopersicon esculentum*.

Die Expression des B-Genes aus *Lycopersicon esculentum* in Tomat (Lycopene b-cyclase; Datenbank-eintrages AF254793) erfolgt unter Kontrolle des fruchtspezifischen Promoters PDS (phytoene desaturase; Datenbank-eintrages U46919) aus *Lycopersicon esculentum*. Als Terminatorelement wird 35S aus CaMV verwendet. Die Sequenz des B-Genes wurde durch PCR aus genomischer DNA aus *Lycopersicon esculentum* hergestellt.

Zur Isolation des B-Genes mittels PCR mit genomischer DNA von *Lycopersicon esculentum* wurden die Oligonukleotid Primer BGEN-1 (SEQ ID No. 85) und BGEN-2 (SEQ ID No. 86) verwendet.

Die genomische DNA wurde aus *Lycopersicon esculentum* wie beschrieben (Galbiati M et al. Funct. Integr. Genomics 2000, 20 1:25-34) isoliert.

Die PCR Amplifikation wurde wie folgt durchgeführt:

- 80ng genomische DNA
- 1x Expand Long Template PCR Puffer
- 5 2,5 mM MgCl₂
- je 350 µM dATP, dCTP, dGTP, dTTP
- 0.3 µM BGEN-1 (SEQ ID No. 85)
- 0.3 µM BGEN-2 (SEQ ID No. 86)
- 2,5 Units Expand Long Template Polymerase
- 10 in einem Endvolumen von 25 µl

Folgendes Temperaturprogramm wurde verwendet:

- 1 Zyklus mit 120 sec bei 94°C
- 15 35 Zyklen mit 94°C für 10 sec, 48°C für 30 sec und 68°C für 3 min
- 1 Zyklus mit 68°C für 10 min

Die PCR-Amplifikation mit BGEN-1 und BGEN-2 resultiert in einem 1.505 kb Fragment (SEQ ID No. 87) das für die b-Hydroxylase co-
20 diert. Das Amplifikat wird in den PCR-Klonierungsvektor pCR-2.1 (Invitrogen) kloniert. Dieser Klon heisst pBGEN.

Sequenzierungen des Klons pBGEN mit den Primern M13-R und M13-F bestätigte eine Sequenz, welche mit der DNA-Sequenz von 1-1497
25 des Datenbank-eintrages AF254793 identisch ist. Der Klon pCrtr-b2 wird daher für die Klonierung in den Vektor pCSP02 verwendet (siehe unten).

Für die Herstellung der PDS-Promotor-Sequenz aus *Lycopersicon*
30 *esculentum* wird genomische DNA aus *Lycopersicon esculentum*-Gewebe nach Standardmethoden isoliert und durch genomische PCR unter Verwendung der Primer PDS-1 und PDS-2 eingesetzt. Die PCR zur Amplifikation dieses PDS-Promotor-Fragmentes, erfolgt in einem 50
ul. Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:

- 35
- 1 ul genomische DNA (hergestellt wie oben beschrieben)
- 0.3 mM dNTPs
- 0.2 µM PDS-1 (SEQ ID No. 89)
- 0.2 µM PDS-2 (SEQ ID No. 90)
- 40 - 5 ul 10X Pfu-Turbo Polymerase (Stratagene)
- 1 ul Pfu-Turbo Polymerase (Stratagene)
- 28.8 ul Aq. Dest.

Folgendes Temperaturprogramm wurde verwendet:

- 45
- 1 Zyklus mit 120 sec bei 94°C
- 36 Zyklen mit 94°C für 60 sec, 55°C für 120 sec und 72°C für 4 min

1 Zyklus mit 72°C für 10 min

Die PCR-Amplifikation mit PDS-1 und PDS-2 resultiert in einem Fragment das die Sequenz für den PDS-Promotor enthaelt. Das Amplifikat wird in den pCR4-BLUNT (Invitrogen) kloniert. Dieser Klon heisst pPDS.

Sequenzierungen mit den Primern M13-R und M13-F bestätigen eine zur Sequenz SEQ ID No. 91 identische Sequenz. Dieser Klon heisst pPDS und wird daher für die Klonierung in den Vektor pJBGEN verwendet (siehe unten).

Der erste Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 1.499 bp NcoI/EcoRI Fragmentes aus pBGEN, abgeleitet vom Klonierungsvektor pCR2.1 (Invitrogen). Zunaechst wird pBGEN mit BamHI geschnitten, die 3'Enden nach Standardmethoden (30 min bei 30°C) aufgefuehlt (Klenow-fill-in) und dann ein Partialverdau mit NcoI durchgefuehrt, bei dem das entstehende 1.499 kb Fragment isoliert. Anschliessend wurde dieses Fragment in den pCSP02 kloniert, welches vorher mit EcoRI geschnitten, die 3'Enden nach Standardmethoden (30 min bei 30°C) aufgefuehlt (Klenow-fill-in) und dann wird mit NcoI geschnitten. Der Klon, der das 1.497 bp B-Gen-Fragment BGEN enthaelt, heisst pJAP:BGEN. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem 35S-Terminator und dem B-Gen.

Der zweite Klonierungsschritt erfolgt durch Isolierung des 2.078 bp PDS PROM Fragmentes aus pPDS. Zunaechst wird pPDS mit SmaI geschnitten und dann ein Partialverdau mit SacI durchgefuehrt, bei dem das entstehende 2.088 bp Fragment isoliert. Anschliessend wurde dieses Fragment in den pJAP:BGEN kloniert, welches vorher mit BamHI geschnitten, die 3' Enden nach Standardmethoden (30 min bei 30°C) aufgefuehlt (Klenow-fill-in) und dann wird mit SacI geschnitten. Durch die Ligation entsteht eine transkriptionelle Fusion zwischen dem Promotor PDS und dem B-Gen. Der Klon, der das 2.078 bp PDS Promotoren BGEN enthaelt, heisst pJPDS:BGEN.

Beispiel 19: Herstellung eines Dreifach-Expressionsvektors zur Ueberexpression des B-Genes, der Expression der *Nostoc punctiforme* Ketolase NP196, sowie der Ueberexpression der chromoplastenspezifischen B-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum* fruchtspezifisch in *Lycopersicon esculentum*.

Zunaechst erfolgt die Herstellung eines Doppelkonstruktes, das Expressionskassetten zur Ueberexpression der *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 NP196 Ketolase sowie zur Ueberexpression der B-Hydroxylase enthaelt. Zunaechst wird dem Fragment AP3P:b-Hydroxy-

61

lase:LB3, das die B-Hydroxylase-Expressionskassette enthaelt, als 2104 bp Ecl136II-XhoI Fragment isoliert aus pCSP03 (in Beispiel 18 beschrieben). Das Auffüllen der 3' Enden (30 min bei 30°C) erfolgt nach Standardmethoden (Klenow-fill-in). Anschliessend, wurde dieses Fragment in der Vektor MSP120 (in Beispiel 10 beschrieben) mit Ecl136II und EcoRI geschnitten, die 3'Enden nach Standardmethoden (30 min bei 30°C) aufgefüllt (Klenow-fill-in). Durch die Ligation entsteht eine T-DNA die zwei Expressionskassetten enthaelt: erstens eine Kassette zur chromoplastenspezifischen Ueberexpression der B-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum*, und zweitens eine Kassette zur Ueberexpression der Ketolase NP196 aus *Nostoc punctiforme*. Die B-Hydroxylase-Runterregulierungs-Kassette kann in zwei Orientierungen in den Vektor ligieren. Bevorzugt wird die Version verwendet, in der beide Expressionskassette in ihrer Orientierung uebereinstimmen (siehe Abbildung 14). Diese Version kann durch PCR wie beschrieben identifiziert werden:

Die PCR zur Amplifikation des PR206-PR010 Plasmid-Fragmentes, das die Verbindung von LB3 terminator der B-Hydroxylase-Kassette und des AP3P-Promoters der Ketolase-Kassette enthaelt, erfolgt in einem 50 ul Reaktionsansatz, in dem enthalten ist:

- 1 ul Plasmid-DNA (nach Standardmethoden hergestellt)
- 25 - 0.25 mM dNTPs
- 0.2 uM PR010 (SEQ ID No. 92)
- 0.2 uM PR206 (SEQ ID No. 93)
- 5 ul 10X PCR-Puffer (TAKARA)
- 0.25 ul. R Taq Polymerase (TAKARA)
- 30 - 28.8 ul. Aq. Dest.

Die PCR-Amplifikation mit PR010 und PR206 resultiert in einem 1.080 Bp Fragment, das auf das Vorliegen der oben beschriebenen Verbindung von LB3-Terminator und AP3P-Promotor hinweist, und damit die bevorzugte Orientierung beider Expressionskassetten. Dieser Klon heisst pBHYX:NP196.

Zur Klonierung dieser B-Gen-Ueberexpressionskassette in Expressionsvektoren für die Agrobacterium-vermittelte Transformation von Tomate erfolgt durch Isolierung des 4.362 Bp EcoRV-XhoI Fragmentes aus pJPDS:BGEN (siehe Beispiel 19) und Ligierung in dem SmaI-XhoI-geschnittenen Vektor pBHYX:NP196 (oben beschrieben). Durch die Ligation entsteht eine T-DNA die drei Expressionskassetten enthaelt: erstens eine Kassette zur Ueberexpression des B-Genes, zweitens eine Kassette zur Ueberexpression der Ketolase NP196-1 aus *Nostoc punctiforme*, und drittens eine Kassette zur chromoplastenspezifischen Ueberexpression der B-Hydroxylase aus

62

Lycopersicon esculentum (Abbildung 14, Konstruktkarte). Dieser Klon heisst MSP124. In der Abbildung 14 beinhaltet Fragment AP3P PROM (765 bp) den AP3P-Promoter, das Fragment *BHYX b2 CDS* (2 bp) die B-Hydroxylase CrtRb2, Fragment *LB3 TERM* (296 bp) den LB3 Terminator.

Weiterhin beinhaltet Fragment AP3P PROM (765 bp) den AP3P-Promoter, Fragment *rbcS TP FRAGMENT* (194 bp) das Transitpeptid des *rbcS* Gens aus Erbse, *NP196 KETO CDS* (761 bp) die Ketolase aus *10 stoc punctiforme ATCC29133*, und *OCS TERM* (192 bp) das Polyadenylierungssignal des Octopin-Synthasegens.

Weiterhin beinhaltet Fragment *PDS PROM* (2078 bp) den PDS Promoter, Fragment *BGEN CDS* (1.497 bp) die B-Gen Sequenz, und Fragment
15 *35S TERM* (746 bp) den 35S Terminator.

Beispiel 20:

Herstellung transgener *Lycopersicon esculentum* Pflanzen
20

Transformation und Regeneration von Tomatenpflanzen wurde in Beispiel 6 beschrieben.

Gemäß der beschriebenen Transformationsmethode wurden mit folgenden Expressionskonstrukten folgende Linien erhalten:
25

Mit MSP120 wurde erhalten: MSP120-1, MSP120-2, MSP120-3

Mit MSP121 wurde erhalten: MSP121-1, MSP121-2, MSP121-3
30

Mit MSP122 wurde erhalten: MSP122-1, MSP122-2, MSP122-3

Mit MSP123 wurde erhalten: MSP123-1, MSP123-2, MSP123-3

35 Mit MSP124 wurde erhalten: MSP124-1, MSP124-2, MSP124-3

40

45

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten Pflanzen, die in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweisen.
5
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Pflanzen verwendet, die in Früchten eine Ketolase exprimieren.
10
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Pflanzen verwendet, die in Früchten mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, enthalten.
15
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Pflanzen verwendet, in die man ausgehend von einer Ausgangspflanze mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, eingebracht hat.
20
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren einbringt, die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO. 2 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20% auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO. 2 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.
25
6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO. 1 einbringt.
30
7. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren einbringt die ein Protein kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO. 16 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20% auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO. 16 und die enzymatische Eigenschaft einer Ketolase aufweist.
35
40
8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO. 15 einbringt.
45

Sequ. + Zeichn.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Pflanzen verwendet, die in Früchten die höchste Expressionsrate einer Ketolase aufweisen.
- 5
10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Genexpression der Ketolase unter Kontrolle eines fruchtspezifischen Promotors erfolgt.
- 10 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzen zusätzlich gegenüber dem Wildtyp eine erhöhte Aktivität mindestens einer der Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe Hydroxylase-Aktivität und β -Cyclase-Aktivität aufweisen.
- 15
12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass man zur zusätzlichen Erhöhung mindestens einer der Aktivitäten, die Genexpression mindestens einer Nukleinsäure ausgewählt aus der Gruppe, Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase und
- 20 Nukleinsäuren kodierend eine β -Cyclase gegenüber dem Wildtyp erhöht.
13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass man zur Erhöhung der Genexpression mindestens einer der Nukleinsäuren, mindestens eine Nukleinsäure ausgewählt aus der
- 25 Gruppe, Nukleinsäuren kodierend eine Hydroxylase und Nukleinsäuren kodierend eine β -Cyclase in die Pflanze einbringt.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine Hydroxylase, Nukleinsäuren einbringt die eine Hydroxylase kodieren, enthaltend die
- 30 Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 52 oder eine von dieser Sequenz durch Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abgeleitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 %
- 35 auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 52 aufweist.
15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 51 einbringt.
- 40
16. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass man als Nukleinsäure kodierend eine β -Cyclase, Nukleinsäuren einbringt die eine β -Cyclase kodieren, enthaltend die Aminosäuresequenz SEQ ID NO: 54 oder eine von dieser Sequenz durch
- 45 Substitution, Insertion oder Deletion von Aminosäuren abge-

leitete Sequenz, die eine Identität von mindestens 20 % auf Aminosäureebene mit der Sequenz SEQ ID NO: 54 aufweist.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass man Nukleinsäuren, enthaltend die Sequenz SEQ ID NO: 53 einbringt.
18. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass man genetisch veränderte Pflanzen verwendet, die in Blüten die höchste Expressionsrate einer Hydroxylase und/oder β -Cyclase aufweisen.
19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Genexpression der Hydroxylase und/oder β -Cyclase unter Kontrolle eines blütenspezifischen Promotors erfolgt.
20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pflanze eine Pflanze verwendet, die in Früchten Chromoplasten aufweist.
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass man als Pflanze eine Pflanze ausgewählt aus den Pflanzengattungen Actinophloeus, Aglaeonema, Ananas, Arbutus, Archontophoenix, Area, Aronia, Asparagus, Attalea, Berberis, Bixia, Brachychilum, Bryonia, Caliptocalix, Capsicum, Carica, Celastrus, Citrullus, Citrus, Convallaria, Cotoneaster, Crataegus, Cucumis, Cucurbita, Cuscuta, Cycas, Cyphomandra, Dioscorea, Diospyrus, Dura, Elaeagnus, Elaeis, Erythroxylon, Euonymus, Ficus, Fortunella, Fragaria, Gardinia, Gonocaryum, Gossypium, Guava, Guilielma, Hibiscus, Hippophaea, Iris, Lathyrus, Lonicera, Luffa, Lycium, Lycopersicum, Malpighia, Mangifera, Mormodica, Murraya, Musa, Nenga, Palisota, Pandanus, Passiflora, Persea, Physalis, Prunus, Ptychandra, Punica, Pyracantha, Pyrus, Ribes, Rosa, Rubus, Sabal, Sambucus, Seaforita, Shepherdia, Solanum, Sorbus, Synaspadix, Tabernae, Tamus, Taxus, Trichosanthes, Triphasia, Vaccinium, Viburnum, Vignia oder Vitis verwendet.
22. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass man nach dem Kultivieren die genetisch veränderten Pflanzen erntet und anschließend die Ketocarotinoide aus den Früchten der Pflanzen isoliert.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Ketocarotinoide ausgewählt sind aus der Gruppe Astaxanthin, Canthaxanthin, Echinenon, 3-Hydroxyechinenon, 3'-Hydroxyechinenon, Adonirubin und Adonixanthin.
- 5 24. Nukleinsäurekonstrukt, enthaltend funktionell verknüpft einen fruchtspezifischen Promotor und eine Nukleinsäure kodierend eine Ketolase.
- 10 25. Genetisch veränderte Pflanze, die in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweist.
26. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die genetisch veränderte Pflanze in
15 den Früchten eine Ketolase exprimiert.
27. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 25 oder 26, enthaltend in Früchten mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.
20
28. Genetisch veränderte Pflanze nach einem der Ansprüche 25 bis 27, dadurch gekennzeichnet dass man in die Pflanze ausgehend von einer Ausgangspflanze mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase, eingebracht hat.
- 25 29. Genetisch veränderte Pflanze nach einem der Ansprüche 25 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass die genetische Veränderung zusätzlich mindestens eine der Aktivitäten, ausgewählt aus der Gruppe Hydroxylase-Aktivität und β -Cyclase-Aktivität gegenüber einer Wildtyppflanze erhöht.
30
30. Genetisch veränderte Pflanze, ausgewählt aus den Pflanzengattungen Actinophloeus, Aglaeonema, Ananas, Arbutus, Archontophoenix, Area, Aronia, Asparagus, Attalea, Berberis, Bixia,
35 Brachychilum, Bryonia, Caliptocalix, Capsicum, Carica, Celastrus, Citrullus, Citrus, Convallaria, Cotoneaster, Crataegus, Cucumis, Cucurbita, Cuscuta, Cycas, Cyphomandra, Dioscorea, Diospyrus, Dura, Elaeagnus, Elaeis, Erythroxylon, Euonymus, Ficus, Fortunella, Fragaria, Gardinia, Gonocaryum, Gossypium, Guava, Guilielma, Hibiscus, Hippophaea, Iris, Lathyrus, Lonicera, Luffa, Lycium, Lycopersicum, Malpighia, Mangifera, Mormodica, Murraya, Musa, Nenga, Palisota, Pandanus, Passiflora, Persea, Physalis, Prunus, Ptychandra, Punica, Pyracantha, Pyrus, Ribes, Rosa, Rubus, Sabal, Sambucus, Seaforita,
40 Shepherdia, Solanum, Sorbus, Synaspadix, Tabernae, Tamus, Taxus, Trichosanthes, Triphasia, Vaccinium, Viburnum, Vignia
45

oder Vitis, enthaltend mindestens eine Nukleinsäure, kodierend eine Ketolase.

31. Genetisch veränderte Pflanze nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Ketolase in Früchten exprimiert wird.
32. Genetisch veränderte Pflanze nach einem der Ansprüche 25 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass die Expressionsrate einer Ketolase in Früchten am höchsten ist.
33. Verwendung der genetisch veränderten Pflanzen nach einem der Ansprüche 25 bis 32 als Futter- oder Nahrungsmittel.
34. Verwendung der Früchte der genetisch veränderten Pflanzen nach einem der Ansprüche 25 bis 32 zur Herstellung von Keto-carotinoid-haltigen Extrakten oder zur Herstellung von Futter- oder Nahrungsergänzungsmittel.
35. Verfahren zur Herstellung von genetisch veränderten Pflanzen gemäß Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Nukleinsäurekonstrukt, enthaltend funktionell verknüpft einen fruchtspezifischen Promotor und Nukleinsäuren kodierend eine Ketolase in das Genom der Ausgangspflanze einführt.

Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden in Früchten von Pflanzen

5 Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Ketocarotinoiden durch Kultivierung von genetisch veränderten Pflanzen, die in Früchten eine Ketolase-Aktivität aufweisen.

10

15

20

25

30

35

40

45

Abbildung 1: Biosyntheschema von Carotinoiden in Tomatenfrüchten

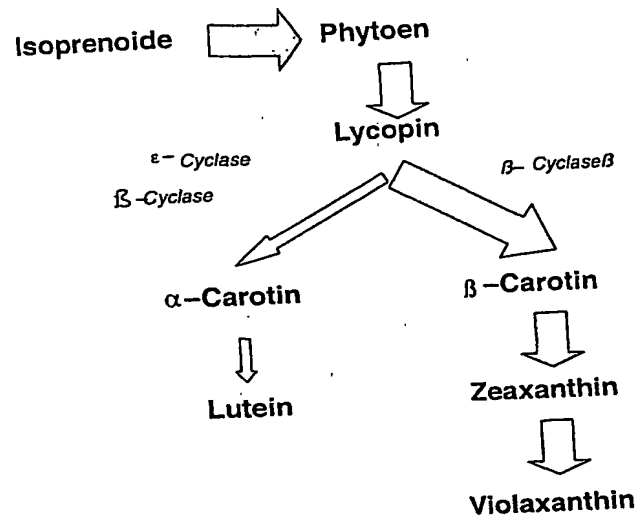


Abbildung 2: Biosyntheschema von Astaxanthin in genetisch veränderten Tomatenfruechten

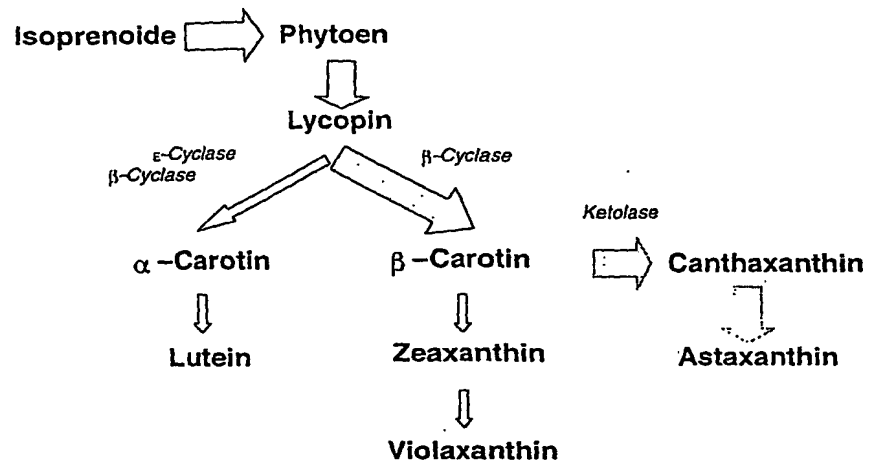


Abbildung 3: Nukleotidsequenzvergleich

```
KETO2.seq ATCCAGCTACCACTGACAGTAATGTTGGACCACTTACCCGAAGCCCTGAGCCACTCAAGGAGAAGGAGAAGGAGGTTCCACCCAGCTCTGACGTGTTCC
X86782.seq ATCCAGCTACCACTGACAGTAATGTTGGACCACTTACCCGAAGCCCTGAGCCACTCAAGGAGAAGGAGAAGGAGGTTCCACCCAGCTCTGACGTGTTCC

KETO2.seq GTACATGCCCCGACCCAGTACTCCCTTCCGTCAGAGAGTACAGACCCGCCGCCGCCGCCGACTGAAGAATCCCTACAAGCCACACCTTCCGACACAAAGG
X86782.seq GTACATGCCCCGACCCAGTACTCCCTTCCGTCAGAGAGTACAGACCCGCCGCCGCCGCCGACTGAAGAATCCCTACAAGCCACACCTTCCGACACAAAGG

KETO2.seq CATCACAATGCCCCAGCTGTCATCCCTCTCTGCCGCCAGTGTCTTCCACCCATTTTTCAAATCAAGCTTCCGACCTCTCTTGACCACTTCCACTGG
X86782.seq CATCACAATGCCCCAGCTGTCATCCCTCTCTGCCGCCAGTGTCTTCCACCCATTTTTCAAATCAAGCTTCCGACCTCTCTTGACCACTTCCACTGG

KETO2.seq CTGCCCGTGTGAGATGCCACAGCTCAGCTGGTTAGCCGCCACGACCCCTCTCCACATCGTCTGTAGTATTCTTTGTCTCGAGTTCTCTGTACACAGCCC
X86782.seq CTGCCCGTGTGAGATGCCACAGCTCAGCTGGTTAGCCGCCACGACCCCTCTCTCGACATCGTCTGTAGTATTCTTTGTCTCGAGTTCTCTGTACACAGCCC

KETO2.seq TTTTATCACCACCCATGATCTATCCATGCCACCATGCCATGAGAAACAGCCAGCTTAATGACTTCTTGGCCAGAGTATCCATCTCTTGTACCCCTG
X86782.seq TTTTATCACCACCCATGATCTATCCATGCCACCATGCCATGAGAAACAGCCAGCTTAATGACTTCTTGGCCAGAGTATCCATCTCTTGTACCCCTG

KETO2.seq GTTTGATTACAACATCTCCACCCCAAGCATTTCGAGCCACCAACCACTGCGGAGGTGCGCAAGGACCTGACTTCCACAGCCGAAACCTTCCATT
X86782.seq GTTTGATTACAACATCTCCACCCCAAGCATTTCGAGCCACCAACCACTGCGGAGGTGCGCAAGGACCTGACTTCCACAGCCGAAACCTTCCATT

KETO2.seq GTCCCCTGCTTTGCCAGCTTTCATGTCCAGCTACATGTCCGATGTCCAGTTTCCGCCCTCCCATGGTGGACGGTGGTCATCCAGCTCTCTGGTCCGCCAA
X86782.seq GTCCCCTGCTTTGCCAGCTTTCATGTCCAGCTACATGTCCGATGTCCAGTTTCCGCCCTCCCATGGTGGACGGTGGTCATCCAGCTCTCTGGTCCGCCAA

KETO2.seq TCCCGAACCCTCTCTGTGTTTCATGCCGCCGCCGCCCATCTGTGCCCTTCCGCTTGTCTACTTTGCCAGGTACATGCCCCACAAGCTTGAGCTTCCGCC
X86782.seq TCCCGAACCCTCTCTGTGTTTCATGCCGCCGCCGCCCATCTGTGCCCTTCCGCTTGTCTACTTTGCCAGGTACATGCCCCACAAGCTTGAGCTTCCGCC

KETO2.seq CCGGTCAAGCTCTTTCACCAAGCTGTCATGAAGTGGTGGAGTGGCCACTAGCCAGCCGTCCGACCTGGTCAAGCTTCTTGACCTCTACCACTTCCAGCTG
X86782.seq CCGGTCAAGCTCTTTCACCAAGCTGTCATGAAGTGGTGGAGTGGCCACTAGCCAGCCGTCCGACCTGGTCAAGCTTCTTGACCTCTACCACTTCCAGCTG

KETO2.seq CACTGGGACCAACCCCTGCCCTTTGCCGCCCTGGTGGAGCTGCCCAACTGCCGCCCTGTCTGCCGAGGTCTGGTCTCTCTAG
X86782.seq CACTGGGACCAACCCCTGCCCTTTGCCGCCCTGGTGGAGCTGCCCAACTGCCGCCCTGTCTGCCGAGGTCTGGTCTCTCTAG
```

Abbildung 4: Proteinsequenzvergleich

KETO2.pro	MQLAATVMLEQLTGSAEALKEKEKEVAGSSDVLRTWATQYSLPSEE
X86782.pro	MQLAATVMLEQLTGSAEALKEKEKEVAGSSDVLRTWATQYSLPSEE
KETO2.pro	RPGLKNAYKPPPSDTKGITMALAVIGSWAAVFLHAIFQIKLPTSLD
X86782.pro	RPGLKNAYKPPPSDTKGITMALRVIGSWAAVFLHAIFQIKLPTSLD
KETO2.pro	LPVSDATAQLVSGSSSLLHIVVVFFVLEFLYTGLFITTHDAMHGTI
X86782.pro	LPVSDATAQLVSGTSSSLLDIVVVFFVLEFLYTGLFITTHDAMHGTI
KETO2.pro	RQLNDFLGRVCI SLYAWFDYNMLHRKHWEHHNHTGEVVGKDPDFHRG
X86782.pro	RQLNDFLGRVCI SLYAWFDYNMLHRKHWEHHNHTGEVVGKDPDFHRG
KETO2.pro	VPWFASFMS SYMS MWQFARLAWWTVVMQLLGAPMANLLVFMAA API
X86782.pro	VPWFASFMS SYMS MWQFARLAWWTVVMQLLGAPMANLLVFMAA API
KETO2.pro	RLFYFGTYMPHKPEPGAASGSSPAVMNWWKSRTSQASDLVSFLT CY
X86782.pro	RLFYFGTYMPHKPEPGAASGSSPAVMNWWKSRTSQASDLVSFLT CY
KETO2.pro	HWEHHRWPFAPWWELPNCRRLSGRGLVPA
X86782.pro	HWEHHRWPFAPWWELPNCRRLSGRGLVPA

Abbildung 5: Konstrukt zur Überexpression des β -C-4-Oxygenas Proteins aus *H. pluvialis* mit rbcS Transitpepti aus Erbse unter Kontrolle des d35S-Promoters (T matentransformationskonstrukt)

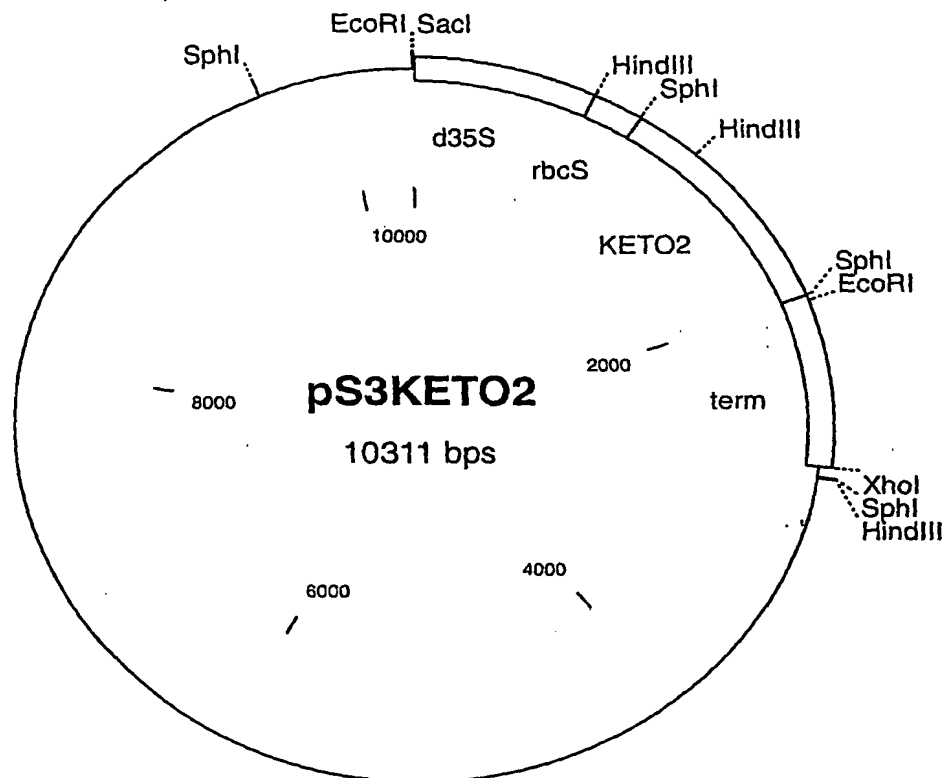


Abbildung 6: Konstrukt zur Überexpression des N-terminal verkürzten Ketolase (β -C-4-Oxygenase) Proteins aus *H. pluvialis* mit rk Transitpeptid aus Erbse unter Kontrolle des d35S-Promoters.

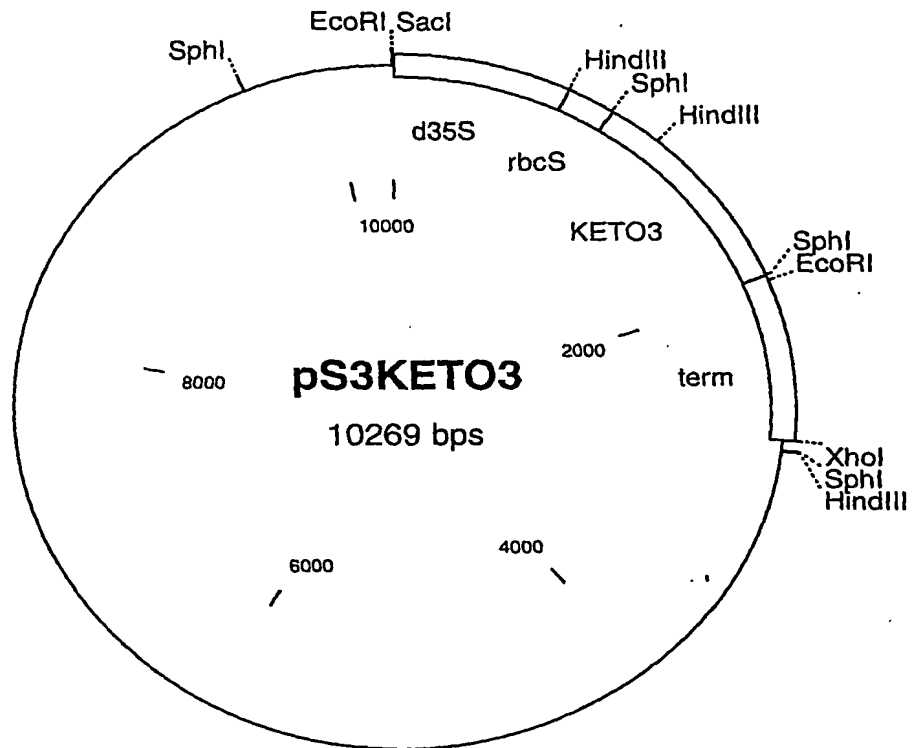


Abbildung 7: Konstrukt zur Überexpression des Ketolase (β -C-4-(genase) Proteins aus *H. pluvialis* mit rbcS Transitpeptid aus Erbse und C-terminalem myc-Tag unter Kontrolle des d35S-Promoters.

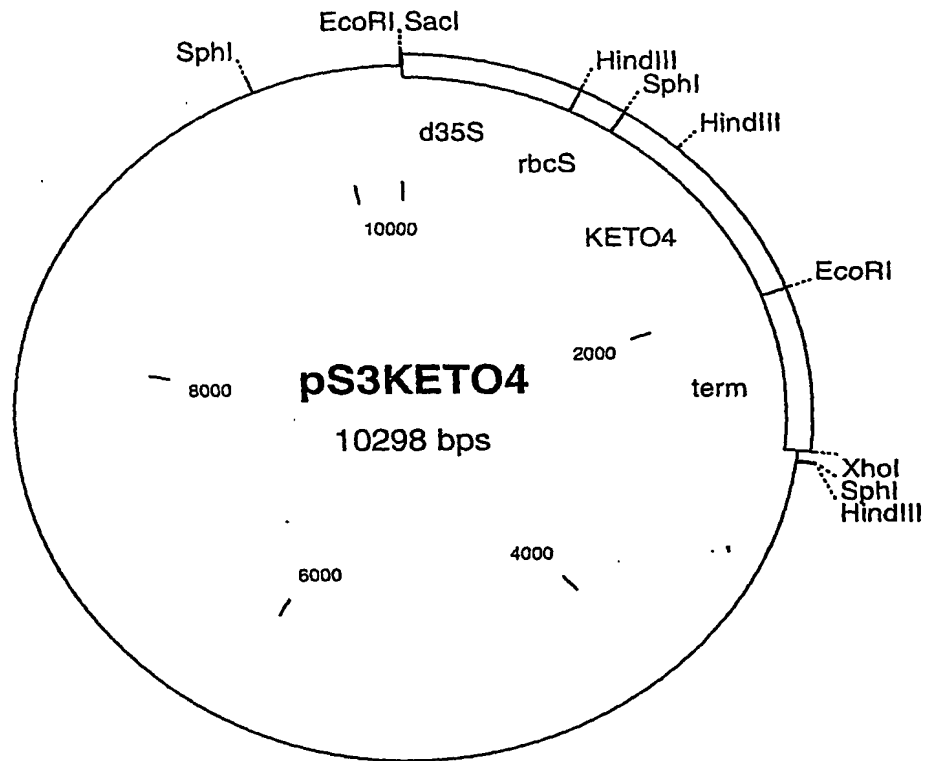
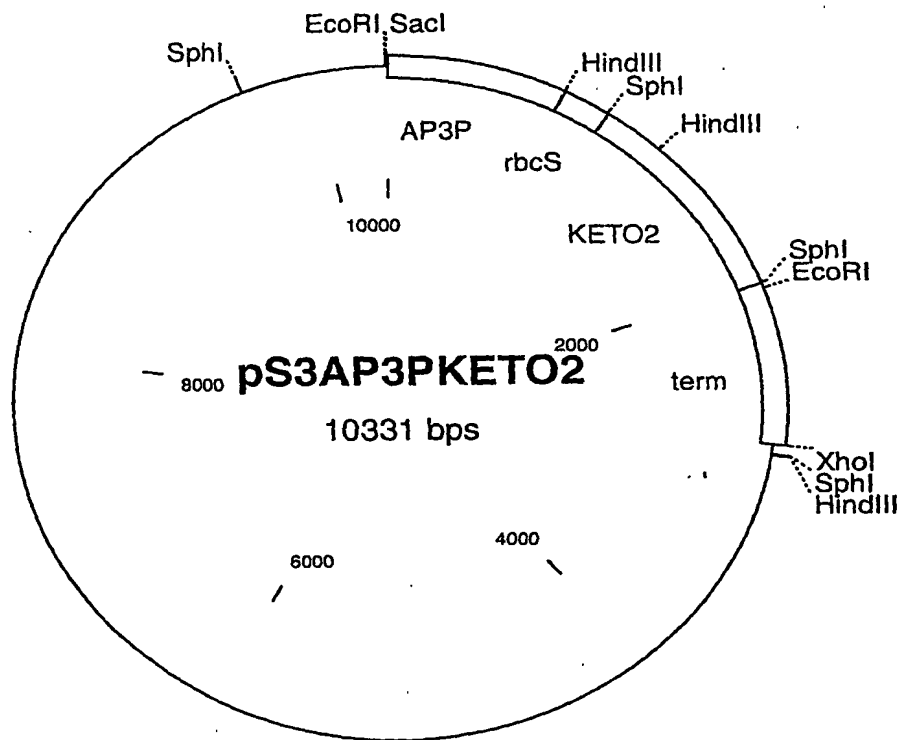


Abbildung 8: Konstrukt zur Überexpression der β -C-4-Oxygenase Protein aus *H. pluvialis* mit *rbcS* Transitpeptide aus Erbse unter Kontrolle des AP3P-Promoters (Tc matentransformationskonstrukt).



9/14

Abbildung 9: Konstrukt zur Überexpression des Ketolase (β -C-4-Oxigenase) Proteins aus *H. pluvialis* mit rbcS Transitpeptid aus Erbse und C-terminalem myc-Tag unter Kontrolle des AP3P-Promoters.

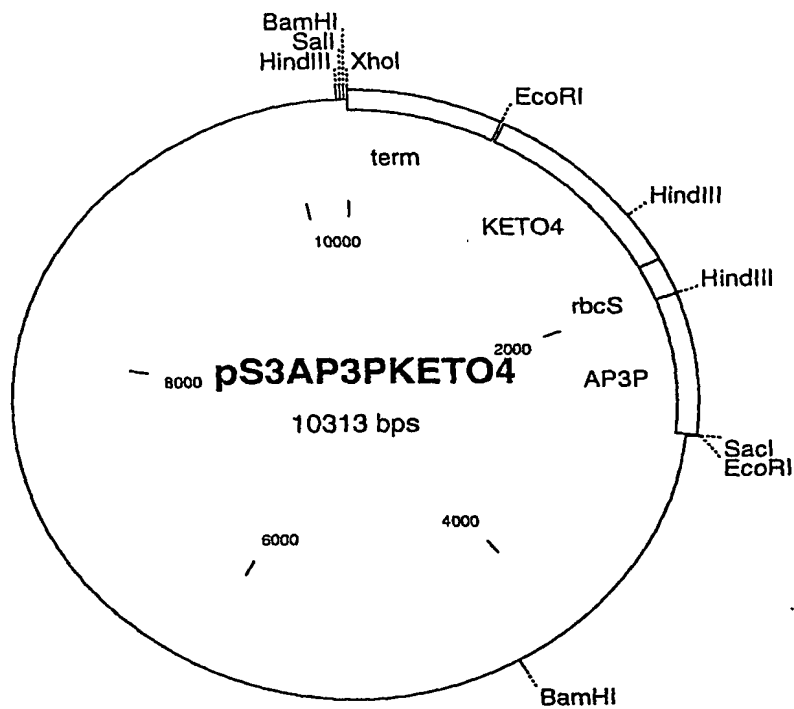


Abbildung 10: pSUN3 konstrukt zur Expression des β -C-4-Oxygenase Protein NP196 aus *Nostoc punctiforme* ATCC 29133 mit rbcS Transkriptid aus Erbse unter Kontrolle des AP3P -Promoters (Tomatentransformationkonstrukt).

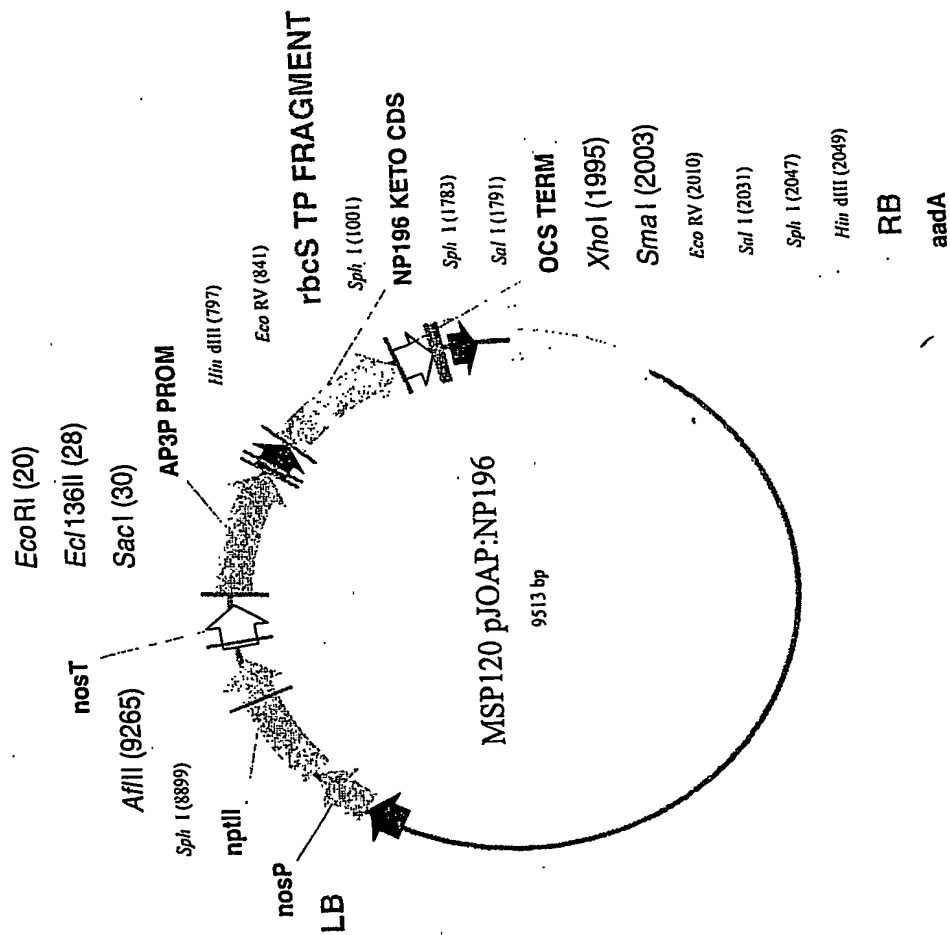


Abbildung 11: pSUN3 konstrukt zur Expression des β -C-4-Oxygenase Protein NOST1 aus *Nostoc spp.* PCC7120 mit rbcS Transipteid aus Erbse unter Kontrolle des AP3P -Promoters (Tomatentransformationkonstrukt).

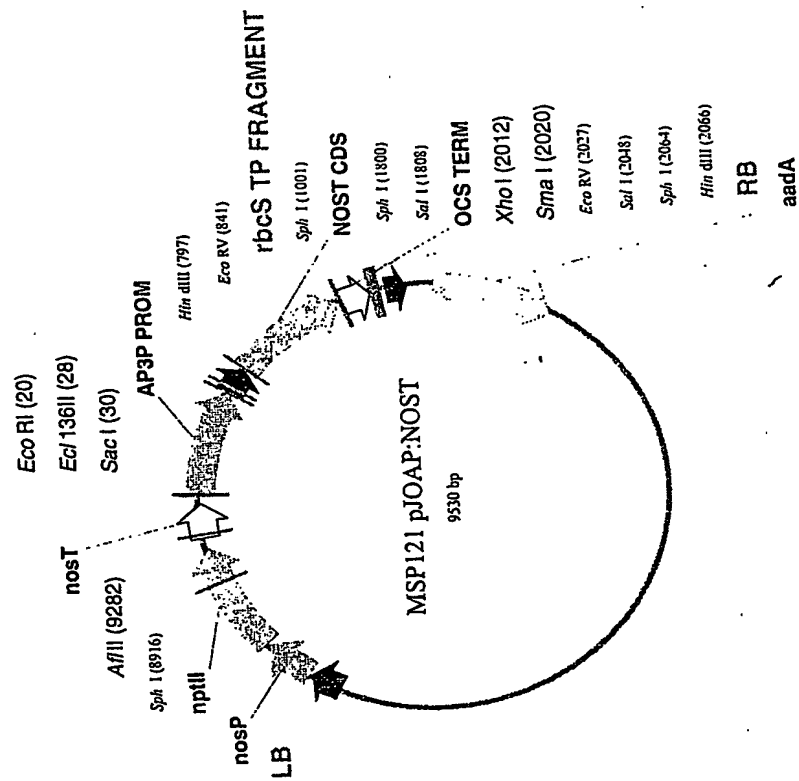
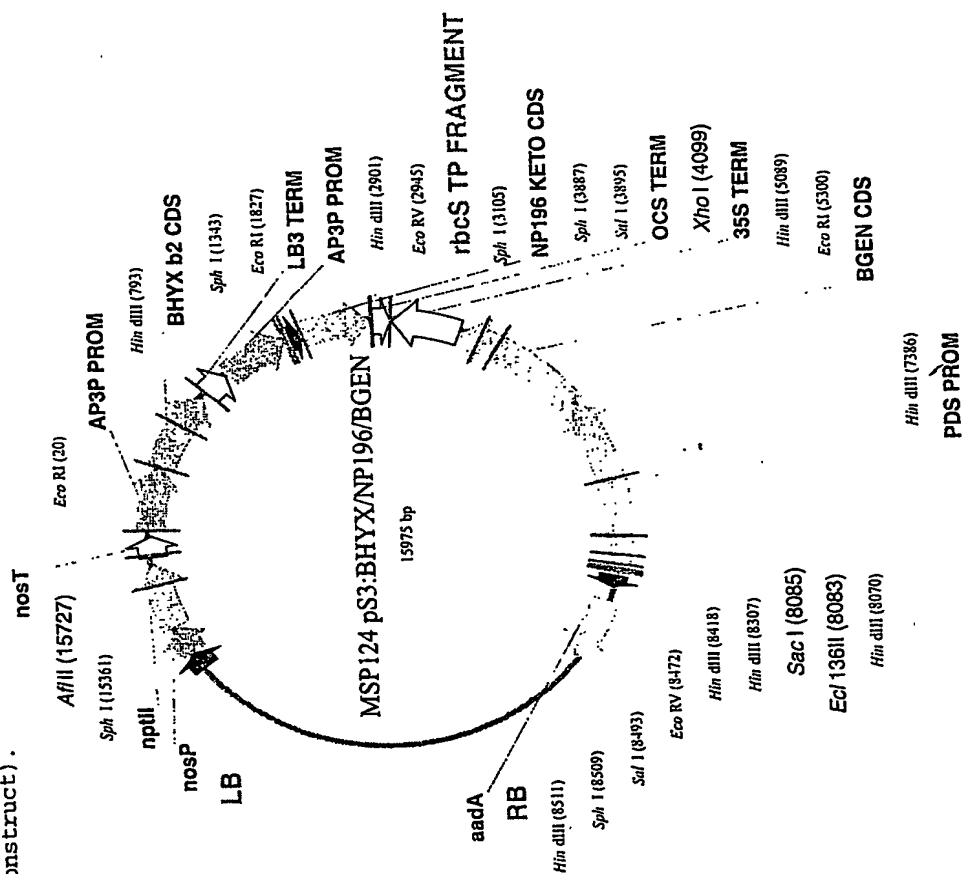


Abbildung 14: pSUN3 konstrukt zur Ueberexpression des B-Genes aus *Lycopersicon esculentum*
 Zur Ueberexpression der Ketolase NP196 -1 aus *Nostoc punctiforme* , und zur
 chromoplastenspezifischen Ueberexpression der B-Hydroxylase aus *Lycopersicon esculentum*
 (Tomatentransformationkonstrukt).
 nosT



SEQUENCE LISTING

5 <110> SunGene GmbH Co. KGaA

10 <120> Verfahren zur herstellung von Astaxanthin in Fruechten von Pflanzen

<130> NAE 365/02

15

<160> 93

20

<170> PatentIn version 3.1

25 <210> 1

<211> 1771

<212> DNA

30

<213> Haematococcus pluvialis

35 <220>

<221> CDS

<222> (166)..(1155)

40

<223>

45 <400> 1
ggcacgagct tgcacgcaag tcagcgcgcg caagtcaaca cctgccgggc cacagcctca 60

aataataaag agctcaagcg tttgtgcgcc tcgacgtggc cagtctgcac tgccttgaac 120

50 ccgcgagtct cccgccgcac tgactgccat agcacagcta gacga atg cag cta gca 177

5	gcg aca gta atg ttg gag cag ctt acc gga agc gct gag gca ctc aag Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala Glu Ala Leu Lys 5 10 15 20	225
10	gag aag gag aag gag gtt gca ggc agc tct gac gtg ttg cgt aca tgg Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val Leu Arg Thr Trp 25 30 35	273
15	gcg acc cag tac tcg ctt ccg tca gaa gag tca gac gcg gcc cgc ccg Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp Ala Ala Arg Pro 40 45 50	321
20	gga ctg aag aat gcc tac aag cca cca cct tcc gac aca aag ggc atc Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp Thr Lys Gly Ile 55 60 65	369
25	aca atg gcg cta cgt gtc atc ggc tcc tgg gcc gca gtg ttc ctc cac Thr Met Ala Leu Arg Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala Val Phe Leu His 70 75 80	417
30	gcc att ttt caa atc aag ctt ccg acc tcc ttg gac cag ctg cac tgg Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp Gln Leu His Trp 85 90 95 100	465
35	ctg ccc gtg tca gat gcc aca gct cag ctg gtt agc ggc acg agc agc Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser Gly Thr Ser Ser 105 110 115	513
40	ctg ctc gac atc gtc gta gta ttc ttt gtc ctg gag ttc ctg tac aca Leu Leu Asp Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr 120 125 130	561
45	ggc ctt ttt atc acc acg cat gat gct atg cat ggc acc atc gcc atg Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Met 135 140 145	609
50	aga aac agg cag ctt aat gac ttc ttg ggc aga gta tgc atc tcc ttg Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val Cys Ile Ser Leu 150 155 160	657
55	tac gcc tgg ttt gat tac aac atg ctg cac cgc aag cat tgg gag cac Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys His Trp Glu His 165 170 175 180	705
60	cac aac cac act ggc gag gtg ggc aag gac cct gac ttc cac agg gga His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp Phe His Arg Gly 185 190 195	753

aac cct ggc att gtg ccc tgg ttt gcc agc ttc atg tcc agc tac atg 801
 Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met
 200 205 210

5

tcg atg tgg cag ttt gcg cgc ctc gca tgg tgg acg gtg gtc atg cag 849
 Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr Val Val Met Gln
 215 220 225

10

ctg ctg ggt gcg cca atg gcg aac ctg ctg gtg ttc atg gcg gcc gcg 897
 Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala
 230 235 240

15

ccc atc ctg tcc gcc ttc cgc ttg ttc tac ttt ggc acg tac atg ccc 945
 Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Met Pro
 245 250 255 260

20

cac aag cct gag cct ggc gcc gcg tca ggc tct tca cca gcc gtc atg 993
 His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser Pro Ala Val Met
 265 270 275

25

aac tgg tgg aag tcg cgc act agc cag gcg tcc gac ctg gtc agc ttt 1041
 Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp Leu Val Ser Phe
 280 285 290

30

ctg acc tgc tac cac ttc gac ctg cac tgg gag cac cac cgc tgg ccc 1089
 Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His His Arg Trp Pro
 295 300 305

35

ttc gcc ccc tgg tgg gag ctg ccc aac tgc cgc cgc ctg tct ggc cga 1137
 Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg
 310 315 320

40

ggt ctg gtt cct gcc tag ctggacacac tgcagtgggc cctgctgcca 1185
 Gly Leu Val Pro Ala
 325

45

gctgggcatg caggttgtgg caggactggg tgaggtgaaa agctgcaggc gctgctgccg 1245
 gacacgctgc atgggctacc ctgtgtagct gccgccacta ggggaggggg tttgtagctg 1305
 tcgagcttgc cccatggatg aagctgtgta gtggtgcagg gactacaccc acaggccaac 1365
 acccttgcag gagatgtctt gcgtcgggag gagtgttggg cagtgtagat gctatgattg 1425
 tatcttaatg ctgaagcctt taggggagcg acacttagtg ctgggcaggc aacgcctgc 1485
 aaggtgcagg cacaagctag gctggacgag gactcgggtg caggcaggtg aagaggtgcg 1545

50

ggaggggtgt gccacacca ctgggcaaga ccatgctgca atgctggcgg tgtggcagtg 1605

agagctgcgt gattaactgg gctatggatt gtttgagcag tctcacttat tctttgatat 1665
 agatactggt caggcaggtc aggagagtga gtatgaacaa gttgagaggt ggtgcgctgc 1725
 5 ccctgcgctt atgaagctgt aacaataaag tggttcaaaa aaaaaa 1771

10 <210> 2

<211> 329

<212> PRT

15 <213> Haematococcus pluvialis

20 <400> 2

Met Gln Leu Ala Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala
 1 5 10 15

25 Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val
 20 25 30

30 Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp
 35 40 45

35 Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp
 50 55 60

Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Arg Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala
 65 70 75 80

40 Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp
 85 90 95

45 Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser
 100 105 110

50 Gly Thr Ser Ser Leu Leu Asp Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu
 115 120 125

Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly
 130 135 140

5

Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val
 145 150 155 160

10

Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys
 165 170 175

15

His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp
 180 185 190

20

Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met
 195 200 205

Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr
 210 215 220

25

Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe
 225 230 235 240

30

Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly
 245 250 255

35

Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser
 260 265 270

40

Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp
 275 280 285

45

Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His
 290 295 300

His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg
 305 310 315 320

50

Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala
325

5 <210> 3
 <211> 1662
 <212> DNA
 10 <213> Haematococcus pluvialis

15 <220>
 <221> CDS
 <222> (168) .. (1130)
 20 <223>

25 <400> 3
 cggggcaact caagaaattc aacagctgca agcgcgcccc agcctcacag cgccaagtga 60
 gctatcgacg tgggtgtgag cgctcgacgt ggtccactga cgggcctgtg agcctctgcg 120
 30 ctccgtcctc tgccaaatct cgcgtcgggg cctgcctaag tcgaaga atg cac gtc 176
 Met His Val
 1

35 gca tcg gca cta atg gtc gag cag aaa ggc agt gag gca gct gct tcc 224
 Ala Ser Ala Leu Met Val Glu Gln Lys Gly Ser Glu Ala Ala Ala Ser
 5 10 15

40 agc cca gac gtc ttg aga gcg tgg gcg aca cag tat cac atg cca tcc 272
 Ser Pro Asp Val Leu Arg Ala Trp Ala Thr Gln Tyr His Met Pro Ser
 20 25 30 35

45 gag tcg tca gac gca gct cgt cct gcg cta aag cac gcc tac aaa cct 320
 Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Ala Leu Lys His Ala Tyr Lys Pro
 40 45 50

cca gca tct gac gcc aag ggc atc acg atg gcg ctg acc atc att ggc 368
 Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr Ile Ile Gly
 55 60 65

50 acc tgg acc gca gtg ttt tta cac gca ata ttt caa atc agg cta ccg 416

	Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Arg Leu Pro	
	70 75 80	
5	aca tcc atg gac cag ctt cac tgg ttg cct gtg tcc gaa gcc aca gcc Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu Ala Thr Ala	464
	85 90 95	
10	cag ctt ttg ggc gga agc agc agc cta ctg cac atc gct gca gtc ttc Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala Ala Val Phe	512
	100 105 110 115	
15	att gta ctt gag ttc ctg tac act ggt cta ttc atc acc aca cat gac Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp	560
	120 125 130	
20	gca atg cat ggc acc ata gct ttg agg cac agg cag ctc aat gat ctc Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg His Arg Gln Leu Asn Asp Leu	608
	135 140 145	
25	ctt ggc aac atc tgc ata tca ctg tac gcc tgg ttt gac tac agc atg Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Ser Met	656
	150 155 160	
30	ctg cat cgc aag cac tgg gag cac cac aac cat act ggc gaa gtg ggg Leu His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly	704
	165 170 175	
35	aaa gac cct gac ttc cac aag gga aat ccc ggc ctt gtc ccc tgg ttc Lys Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe	752
	180 185 190 195	
40	gcc agc ttc atg tcc agc tac atg tcc ctg tgg cag ttt gcc cgg ctg Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu	800
	200 205 210	
45	gca tgg tgg gca gtg gtg atg caa atg ctg ggg gcg ccc atg gca aat Ala Trp Trp Ala Val Val Met Gln Met Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn	848
	215 220 225	
50	ctc cta gtc ttc atg gct gca gcc cca atc ttg tca gca ttc cgc ctc Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu	896
	230 235 240	
55	ttc tac ttc ggc act tac ctg cca cac aag cct gag cca ggc cct gca Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala	944
	245 250 255	
60	gca ggc tct cag gtg atg gcc tgg ttc agg gcc aag aca agt gag gca Ala Gly Ser Gln Val Met Ala Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala	992
	260 265 270 275	

	tct gat gtg atg agt ttc ctg aca tgc tac cac ttt gac ctg cac tgg	1040
	Ser Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp	
	280 285 290	
5	gag cac cac agg tgg ccc ttt gcc ccc tgg tgg cag ctg ccc cac tgc	1088
	Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Gln Leu Pro His Cys	
	295 300 305	
10	cgc cgc ctg tcc ggg cgt gcc ctg gtg cct gcc ttg gca tga	1130
	Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Leu Ala	
	310 315 320	
15	cctgggtccct ccgctggtga cccagcgtct gcacaagagt gtcattgctac aggggtgctgc	1190
	ggccagtggc agcgcagtgc actctcagcc tgtatggggc taccgctgtg ccaactgagca	1250
	ctgggcatgc cactgagcac tgggcgtgct actgagcaat gggcgtgcta ctgagcaatg	1310
20	ggcgtgctac tgacaatggg cgtgctactg gggctctggca gtggctagga tggagtttga	1370
	tgcattcagt agcgggtggc aacgtcatgt ggatgggtgga agtgctgagg ggtttaggca	1430
25	gccggcattt gagaggggcta agttataaat cgcattgctgc tcatgcgcac atatctgcac	1490
	acagccaggg aaatcccttc gagagtgatt atgggacact tgtattgggt tcgtgctatt	1550
	gttttattca gcagcagtac ttagtgaggg tgagagcagg gtggtgagag tggagtgagt	1610
30	gagtatgaac ctggtcagcg aggtgaacag cctgtaatga atgactctgt ct	1662
	<210> 4	
35	<211> 320	
	<212> PRT	
40	<213> Haematococcus pluvialis	
	<400> 4	
45	Met His Val Ala Ser Ala Leu Met Val Glu Gln Lys Gly Ser Glu Ala	
	1 5 10 15	
50	Ala Ala Ser Ser Pro Asp Val Leu Arg Ala Trp Ala Thr Gln Tyr His	
	20 25 30	

Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Ala Leu Lys His Ala
 35 40 45
 5

Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr
 50 55 60
 10

Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile
 65 70 75 80
 15

Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu
 85 90 95
 20

Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala
 100 105 110
 25

Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr
 115 120 125
 30

Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg His Arg Gln Leu
 130 135 140
 35

Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp
 145 150 155 160
 40

Tyr Ser Met Leu His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly
 165 170 175
 45

Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val
 180 185 190
 50

Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe
 195 200 205
 50

Ala Arg Leu Ala Trp Trp Ala Val Val Met Gln Met Leu Gly Ala Pro
 210 215 220

10

Met Ala Asn Leu Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala
 225 230 235 240

5 Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro
 245 250 255

10 Gly Pro Ala Ala Gly Ser Gln Val Met Ala Trp Phe Arg Ala Lys Thr
 260 265 270

15 Ser Glu Ala Ser Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp
 275 280 285

Leu His Trp Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Gln Leu
 290 295 300

20 Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Leu Ala
 305 310 315 320

25 <210> 5

<211> 729

<212> DNA

30

<213> Agrobacterium aurantiacum

35 <220>

<221> CDS

<222> (1)..(729)

40

<223>

45 <400> 5

atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc acc agc ctg
 Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
 1 5 10 15

48

50 atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gct tgg ctg gcc ctg cat gtg cat

96

	Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His	
	20 25 30	
5	gcg ctg tgg ttt ctg gac gca gcg gcg cat ccc atc ctg gcg atc gca Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala	144
	35 40 45	
10	aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala	192
	50 55 60	
15	cat gac gcg atg cac ggg tcg gtg gtg ccg ggg cgt ccg cgc gcc aat His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn	240
	65 70 75 80	
	gcg gcg atg ggc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tcg tgg Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp	288
	85 90 95	
20	cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr	336
	100 105 110	
25	gac gac gac ccc gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala	384
	115 120 125	
30	cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro	432
	130 135 140	
35	gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctt ggg gat cgc tgg atg tac Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr	480
	145 150 155 160	
	gtg gtc ttc tgg ccg ctg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe	528
	165 170 175	
40	gtg ttc ggc acc tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro	576
	180 185 190	
45	gac cgc cac aat gcg cgg tcg tcg cgg atc agc gac ccc gtg tcg ctg Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu	624
	195 200 205	
50	ctg acc tgc ttt cac ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His	672
	210 215 220	

ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac 720
 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

5 acc gca tga 729
 Thr Ala

10 <210> 6
 <211> 242

15 <212> PRT
 <213> Agrobacterium aurantiacum

20 <400> 6
 Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
 1 5 10 15

25 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
 20 25 30

30 Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala
 35 40 45

35 Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
 50 55 60

40 His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
 65 70 75 80

45 Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
 85 90 95

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
 100 105 110

50

Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
 115 120 125

5 Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
 130 135 140

10 Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
 145 150 155 160

15 Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
 165 170 175

Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
 180 185 190

20 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
 195 200 205

25 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
 210 215 220

30 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

Thr Ala

35

<210> 7

<211> 1631

40

<212> DNA

<213> Alcaligenes sp.

45

<220>

<221> CDS

50

<222> (99) .. (827)

<223>

5

<400> 7

	ctgcaggccg ggcccgggtgg ccaatgggtcg caaccggcag gactggaaca ggacggcggg	60
10	ccggtctagg ctgtcgccct acgcagcagg agtttcgg atg tcc gga cgg aag cct Met Ser Gly Arg Lys Pro 1 5	116
15	ggc aca act ggc gac acg atc gtc aat ctc ggt ctg acc gcc gcg atc Gly Thr Thr Gly Asp Thr Ile Val Asn Leu Gly Leu Thr Ala Ala Ile 10 15 20	164
20	ctg ctg tgc tgg ctg gtc ctg cac gcc ttt acg cta tgg ttg cta gat Leu Leu Cys Trp Leu Val Leu His Ala Phe Thr Leu Trp Leu Leu Asp 25 30 35	212
25	gcg gcc gcg cat ccg ctg ctt gcc gtg ctg tgc ctg gct ggg ctg acc Ala Ala Ala His Pro Leu Leu Ala Val Leu Cys Leu Ala Gly Leu Thr 40 45 50	260
30	tgg ctg tgc gtc ggg ctg ttc atc atc gcg cat gac gca atg cac ggg Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Ala Met His Gly 55 60 65 70	308
35	tcc gtg gtg ccg ggg cgg ccg cgc gcc aat gcg gcg atc ggg caa ctg Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn Ala Ala Ile Gly Gln Leu 75 80 85	356
40	gcg ctg tgg ctc tat gcg ggg ttc tgc tgg ccc aag ctg atc gcc aag Ala Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp Pro Lys Leu Ile Ala Lys 90 95 100	404
45	cac atg acg cat cac cgg cac gcc ggc acc gac aac gat ccc gat ttc His Met Thr His His Arg His Ala Gly Thr Asp Asn Asp Pro Asp Phe 105 110 115	452
50	ggt cac gga ggg ccc gtg cgc tgg tac ggc agc ttc gtc tcc acc tat Gly His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Gly Ser Phe Val Ser Thr Tyr 120 125 130	500
55	ttc ggc tgg cga gag gga ctg ctg cta ccg gtg atc gtc acc acc tat Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro Val Ile Val Thr Thr Tyr 135 140 145 150	548
60	gcg ctg atc ctg ggc gat cgc tgg atg tat gtc atc ttc tgg ccg gtc	596

15

Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr Val Ile Phe Trp Pro Val
 155 160 165

5 ccc gcc gtt ctg gcg tcg atc cag att ttc gtc ttc gga act tgg ctg 644
 Pro Ala Val Leu Ala Ser Ile Gln Ile Phe Val Phe Gly Thr Trp Leu
 170 175 180

10 ccc cac cgc ccg gga cat gac gat ttt ccc gac cgg cac aac gcg agg 692
 Pro His Arg Pro Gly His Asp Asp Phe Pro Asp Arg His Asn Ala Arg
 185 190 195

15 tcg acc ggc atc ggc gac ccg ttg tca cta ctg acc tgc ttc cat ttc 740
 Ser Thr Gly Ile Gly Asp Pro Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe
 200 205 210

ggc ggc tat cac cac gaa cat cac ctg cat ccg cat gtg ccg tgg tgg 788
 Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His Pro His Val Pro Trp Trp
 215 220 225 230

20 cgc ctg cct cgt aca cgc aag acc gga ggc cgc gca tga cgcaattcct 837
 Arg Leu Pro Arg Thr Arg Lys Thr Gly Gly Arg Ala
 235 240

25 cattgtcgtg gcgacagtcc tcgtgatgga gctgaccgcc tattccgtcc accgctggat 897
 tatgcacggc cccctaggct ggggctggca caagtcccat cacgaagagc acgaccacgc 957
 gttggagaag aacgacctct acggcgctcgt cttcgcggtg ctggcgacga tccctcttcac 1017

30 cgtgggcgcc tattggtggc cgggtgctgtg gtggatcgcc ctgggcatga cgggtctatgg 1077
 gttgatctat ttcactctgc acgacgggct tgtgcatcaa cgctggccgt ttcggtatat 1137
 tccgcggcgg ggctatttcc gcaggctcta ccaagctcat cgctgcacc acgcggctga 1197

35 ggggcgggac cactgcgtca gcttcggctt catctatgcc ccaccgtgg acaagctgaa 1257
 gcaggatctg aagcggctgg gtgtcctgcg cccccaggac gagcgtccgt cgtgatctct 1317

40 gatcccgcg tggccgcatg aaatccgacg tgetgctggc aggggcccgc cttgccaacg 1377
 gactgatcgc gctggcgatc cgcaaggcgc ggcccgaact tcgctgctg ctgctggacc 1437
 gtgcggcggg cgcctcggac gggcatactt ggtcctgcca cgacaccgat ttggcgccgc 1497

45 actggctgga ccgctgaag ccgatcaggc gtggcgactg gccgatcag gaggtgcggt 1557
 tcccagacca ttgcgaagg ctccgggccc gatatggctc gatcgacggg cgggggctga 1617

50 tgcgtgcggt gacc 1631

<210> 8

5 <211> 242

<212> PRT

<213> Alcaligenes sp.

10

<400> 8

15 Met Ser Gly Arg Lys Pro Gly Thr Thr Gly Asp Thr Ile Val Asn Leu
1 5 10 15

20 Gly Leu Thr Ala Ala Ile Leu Leu Cys Trp Leu Val Leu His Ala Phe
20 25 30

25 Thr Leu Trp Leu Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Leu Leu Ala Val Leu
35 40 45

Cys Leu Ala Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
50 55 60

30 His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
65 70 75 80

35 Ala Ala Ile Gly Gln Leu Ala Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
85 90 95

40 Pro Lys Leu Ile Ala Lys His Met Thr His His Arg His Ala Gly Thr
100 105 110

45 Asp Asn Asp Pro Asp Phe Gly His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Gly
115 120 125

Ser Phe Val Ser Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
130 135 140

50

17

Val Ile Val Thr Thr Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
 145 150 155 160

5 Val Ile Phe Trp Pro Val Pro Ala Val Leu Ala Ser Ile Gln Ile Phe
 165 170 175

10 Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Asp Phe Pro
 180 185 190

15 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Thr Gly Ile Gly Asp Pro Leu Ser Leu
 195 200 205

Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
 210 215 220

20 Pro His Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Arg Thr Arg Lys Thr Gly Gly
 225 230 235 240

25 Arg Ala

30 <210> 9

<211> 729

<212> DNA

35 <213> Paracoccus marcusii

<220>

40

<221> CDS

<222> (1)..(729)

45 <223>

<400> 9

50 atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc aca agc ctg

48

Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu

atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gca tgg ctg gcc ctg cat gtg cat 96
Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
20 25 30

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg 192
Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
50 55 60

gca gca atg gcc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tgg tgg 288
Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
85 90 95

gac gac gac cca gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc 384
Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
115 120 125

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc . 432
Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
130 135 140

gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctg ggg gat cgc tgg atg tac 480
Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
145 150 155 160

gtg gtc ttc tgg ccg ttg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc 528
Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
165 170 175

gtg ttc ggc act tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg 576
Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
180 185 190

gac cgc cat aat gcg cgg tcg tcg cgg atc agc gac cct gtg tcg ctg 624
Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
195 200 205

ctg acc tgc ttt cat ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac 672
 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
 210 215 220

5 ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac 720
 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

10 acc gca tga 729
 Thr Ala

15 <210> 10
 <211> 242
 <212> PRT
 20 <213> Paracoccus marcusii

25 <400> 10
 Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
 1 5 10 15

30 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
 20 25 30

35 Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Val Ala
 35 40 45

40 Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
 50 55 60

45 His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
 65 70 75 80

Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
 85 90 95

50

20

Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
 100 105 110

5 Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
 115 120 125

10 Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
 130 135 140

15 Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
 145 150 155 160

Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
 165 170 175

20 Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
 180 185 190

25 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
 195 200 205

30 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
 210 215 220

35 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

Thr Ala

40 <210> 11

<211> 1629

45 <212> DNA

<213> Synechococcus sp.

50

<220>

<221> CDS

5 <222> (1) .. (1629)

<223>

10

<400> 11

atg atc acc acc gat gtt gtc att att ggg gcg ggg cac aat ggc tta 48
Met Ile Thr Thr Asp Val Val Ile Ile Gly Ala Gly His Asn Gly Leu
1 5 10 15

15

gtc tgt gca gcc tat ttg ctc caa cgg ggc ttg ggg gtg acg tta cta 96
Val Cys Ala Ala Tyr Leu Leu Gln Arg Gly Leu Gly Val Thr Leu Leu
20 25 30

20

gaa aag cgg gaa gta cca ggg ggg gcg gcc acc aca gaa gct ctc atg 144
Glu Lys Arg Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Thr Thr Glu Ala Leu Met
35 40 45

25

ccg gag cta tcc ccc cag ttt cgc ttt aac cgc tgt gcc att gac cac 192
Pro Glu Leu Ser Pro Gln Phe Arg Phe Asn Arg Cys Ala Ile Asp His
50 55 60

30

gaa ttt atc ttt ctg ggg ccg gtg ttg cag gag cta aat tta gcc cag 240
Glu Phe Ile Phe Leu Gly Pro Val Leu Gln Glu Leu Asn Leu Ala Gln
65 70 75 80

35

tat ggt ttg gaa tat tta ttt tgt gac ccc agt gtt ttt tgt ccg ggg 288
Tyr Gly Leu Glu Tyr Leu Phe Cys Asp Pro Ser Val Phe Cys Pro Gly
85 90 95

ctg gat ggc caa gct ttt atg agc tac cgt tcc cta gaa aaa acc tgt 336
Leu Asp Gly Gln Ala Phe Met Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Lys Thr Cys
100 105 110

40

gcc cac att gcc acc tat agc ccc cga gat gcg gaa aaa tat cgg caa 384
Ala His Ile Ala Thr Tyr Ser Pro Arg Asp Ala Glu Lys Tyr Arg Gln
115 120 125

45

ttt gtc aat tat tgg acg gat ttg ctc aac gct gtc cag cct gct ttt 432
Phe Val Asn Tyr Trp Thr Asp Leu Leu Asn Ala Val Gln Pro Ala Phe
130 135 140

50

aat gct ccg ccc cag gct tta cta gat tta gcc ctg aac tat ggt tgg 480
Asn Ala Pro Pro Gln Ala Leu Leu Asp Leu Ala Leu Asn Tyr Gly Trp
145 150 155 160

	gaa aac tta aaa tcc gtg ctg gcg atc gcc ggg tcg aaa acc aag gcg Glu Asn Leu Lys Ser Val Leu Ala Ile Ala Gly Ser Lys Thr Lys Ala 165 170 175	528
5	ttg gat ttt atc cgc act atg atc ggc tcc ccg gaa gat gtg ctc aat Leu Asp Phe Ile Arg Thr Met Ile Gly Ser Pro Glu Asp Val Leu Asn 180 185 190	576
10	gaa tgg ttc gac agc gaa cgg gtt aaa gct cct tta gct aga cta tgt Glu Trp Phe Asp Ser Glu Arg Val Lys Ala Pro Leu Ala Arg Leu Cys 195 200 205	624
15	tcg gaa att ggc gct ccc cca tcc caa aag ggt agt agc tcc ggc atg Ser Glu Ile Gly Ala Pro Pro Ser Gln Lys Gly Ser Ser Ser Gly Met 210 215 220	672
20	atg atg gtg gcc atg cgg cat ttg gag gga att gcc aga cca aaa gga Met Met Val Ala Met Arg His Leu Glu Gly Ile Ala Arg Pro Lys Gly 225 230 235 240	720
	ggc act gga gcc ctc aca gaa gcc ttg gtg aag tta gtg caa gcc caa Gly Thr Gly Ala Leu Thr Glu Ala Leu Val Lys Leu Val Gln Ala Gln 245 250 255	768
25	ggg gga aaa atc ctc act gac caa acc gtc aaa cgg gta ttg gtg gaa Gly Gly Lys Ile Leu Thr Asp Gln Thr Val Lys Arg Val Leu Val Glu 260 265 270	816
30	aac aac cag gcg atc ggg gtg gag gta gct aac gga gaa cag tac cgg Asn Asn Gln Ala Ile Gly Val Glu Val Ala Asn Gly Glu Gln Tyr Arg 275 280 285	864
35	gcc aaa aaa ggc gtg att tct aac atc gat gcc cgc cgt tta ttt ttg Ala Lys Lys Gly Val Ile Ser Asn Ile Asp Ala Arg Arg Leu Phe Leu 290 295 300	912
40	caa ttg gtg gaa ccg ggg gcc cta gcc aag gtg aat caa aac cta ggg Gln Leu Val Glu Pro Gly Ala Leu Ala Lys Val Asn Gln Asn Leu Gly 305 310 315 320	960
	gaa cga ctg gaa cgg cgc act gtg aac aat aac gaa gcc att tta aaa Glu Arg Leu Glu Arg Arg Thr Val Asn Asn Asn Glu Ala Ile Leu Lys 325 330 335	1008
45	atc gat tgt gcc ctc tcc ggt tta ccc cac ttc act gcc atg gcc ggg Ile Asp Cys Ala Leu Ser Gly Leu Pro His Phe Thr Ala Met Ala Gly 340 345 350	1056
50	ccg gag gat cta acg gga act att ttg att gcc gac tcg gta cgc cat	1104

23

Pro Glu Asp Leu Thr Gly Thr Ile Leu Ile Ala Asp Ser Val Arg His
 355 360 365

5	gtc gag gaa gcc cac gcc ctc att gcc ttg ggg caa att ccc gat gct Val Glu Glu Ala His Ala Leu Ile Ala Leu Gly Gln Ile Pro Asp Ala 370 375 380	1152
10	aat ccg tct tta tat ttg gat att ccc act gta ttg gac ccc acc atg Asn Pro Ser Leu Tyr Leu Asp Ile Pro Thr Val Leu Asp Pro Thr Met 385 390 395 400	1200
15	gcc ccc cct ggg cag cac acc ctc tgg atc gaa ttt ttt gcc ccc tac Ala Pro Pro Gly Gln His Thr Leu Trp Ile Glu Phe Phe Ala Pro Tyr 405 410 415	1248
20	cgc atc gcc ggg ttg gaa ggg aca ggg tta atg ggc aca ggt tgg acc Arg Ile Ala Gly Leu Glu Gly Thr Gly Leu Met Gly Thr Gly Trp Thr 420 425 430	1296
25	gat gag tta aag gaa aaa gtg gcg gat cgg gtg att gat aaa tta acg Asp Glu Leu Lys Glu Lys Val Ala Asp Arg Val Ile Asp Lys Leu Thr 435 440 445	1344
30	gac tat gcc cct aac cta aaa tct ctg atc att ggt cgc cga gtg gaa Asp Tyr Ala Pro Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ile Gly Arg Arg Val Glu 450 455 460	1392
35	agt ccc gcc gaa ctg gcc caa cgg ctg gga agt tac aac ggc aat gtc Ser Pro Ala Glu Leu Ala Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Asn Val 465 470 475 480	1440
40	tat cat ctg gat atg agt ttg gac caa atg atg ttc ctc cgg cct cta Tyr His Leu Asp Met Ser Leu Asp Gln Met Met Phe Leu Arg Pro Leu 485 490 495	1488
45	ccg gaa att gcc aac tac caa acc ccc atc aaa aat ctt tac tta aca Pro Glu Ile Ala Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Lys Asn Leu Tyr Leu Thr 500 505 510	1536
50	ggg gcg ggt acc cat ccc ggt ggc tcc ata tca ggt atg ccc ggt aga Gly Ala Gly Thr His Pro Gly Gly Ser Ile Ser Gly Met Pro Gly Arg 515 520 525	1584
	aat tgc gct cgg gtc ttt tta aaa caa caa cgt cgt ttt tgg taa Asn Cys Ala Arg Val Phe Leu Lys Gln Gln Arg Arg Phe Trp 530 535 540	1629
	<210> 12	

<211> 542

<212> PRT

5 <213> Synechococcus sp.

<400> 12

10

Met Ile Thr Thr Asp Val Val Ile Ile Gly Ala Gly His Asn Gly Leu
 1 5 10 15

15 Val Cys Ala Ala Tyr Leu Leu Gln Arg Gly Leu Gly Val Thr Leu Leu
 20 25 30

20 Glu Lys Arg Glu Val Pro Gly Gly Ala Ala Thr Thr Glu Ala Leu Met
 35 40 45

25 Pro Glu Leu Ser Pro Gln Phe Arg Phe Asn Arg Cys Ala Ile Asp His
 50 55 60

Glu Phe Ile Phe Leu Gly Pro Val Leu Gln Glu Leu Asn'Leu Ala Gln
 65 70 75 80

30 Tyr Gly Leu Glu Tyr Leu Phe Cys Asp Pro Ser Val Phe Cys Pro Gly
 85 90 95

35 Leu Asp Gly Gln Ala Phe Met Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Lys Thr Cys
 100 105 110

40 Ala His Ile Ala Thr Tyr Ser Pro Arg Asp Ala Glu Lys Tyr Arg Gln
 115 120 125

45 Phe Val Asn Tyr Trp Thr Asp Leu Leu Asn Ala Val Gln Pro Ala Phe
 130 135 140

Asn Ala Pro Pro Gln Ala Leu Leu Asp Leu Ala Leu Asn Tyr Gly Trp
 145 150 155 160

50

25

Glu Asn Leu Lys Ser Val Leu Ala Ile Ala Gly Ser Lys Thr Lys Ala
 165 170 175

5 Leu Asp Phe Ile Arg Thr Met Ile Gly Ser Pro Glu Asp Val Leu Asn
 180 185 190

10 Glu Trp Phe Asp Ser Glu Arg Val Lys Ala Pro Leu Ala Arg Leu Cys
 195 200 205

15 Ser Glu Ile Gly Ala Pro Pro Ser Gln Lys Gly Ser Ser Ser Gly Met
 210 215 220

20 Met Met Val Ala Met Arg His Leu Glu Gly Ile Ala Arg Pro Lys Gly
 225 230 235 240

Gly Thr Gly Ala Leu Thr Glu Ala Leu Val Lys Leu Val Gln Ala Gln
 245 250 255

25 Gly Gly Lys Ile Leu Thr Asp Gln Thr Val Lys Arg Val Leu Val Glu
 260 265 270

30 Asn Asn Gln Ala Ile Gly Val Glu Val Ala Asn Gly Glu Gln Tyr Arg
 275 280 285

35 Ala Lys Lys Gly Val Ile Ser Asn Ile Asp Ala Arg Arg Leu Phe Leu
 290 295 300

Gln Leu Val Glu Pro Gly Ala Leu Ala Lys Val Asn Gln Asn Leu Gly
 305 310 315 320

40 Glu Arg Leu Glu Arg Arg Thr Val Asn Asn Asn Glu Ala Ile Leu Lys
 325 330 335

45 Ile Asp Cys Ala Leu Ser Gly Leu Pro His Phe Thr Ala Met Ala Gly
 340 345 350

50 Pro Glu Asp Leu Thr Gly Thr Ile Leu Ile Ala Asp Ser Val Arg His
 355 360 365

Val Glu Glu Ala His Ala Leu Ile Ala Leu Gly Gln Ile Pro Asp Ala
 370 375 380

5

Asn Pro Ser Leu Tyr Leu Asp Ile Pro Thr Val Leu Asp Pro Thr Met
 385 390 395 400

10

Ala Pro Pro Gly Gln His Thr Leu Trp Ile Glu Phe Phe Ala Pro Tyr
 405 410 415

15

Arg Ile Ala Gly Leu Glu Gly Thr Gly Leu Met Gly Thr Gly Trp Thr
 420 425 430

20

Asp Glu Leu Lys Glu Lys Val Ala Asp Arg Val Ile Asp Lys Leu Thr
 435 440 445

25

Asp Tyr Ala Pro Asn Leu Lys Ser Leu Ile Ile Gly Arg Arg Val Glu
 450 455 460

Ser Pro Ala Glu Leu Ala Gln Arg Leu Gly Ser Tyr Asn Gly Asn Val
 465 470 475 480

30

Tyr His Leu Asp Met Ser Leu Asp Gln Met Met Phe Leu Arg Pro Leu
 485 490 495

35

Pro Glu Ile Ala Asn Tyr Gln Thr Pro Ile Lys Asn Leu Tyr Leu Thr
 500 505 510

40

Gly Ala Gly Thr His Pro Gly Gly Ser Ile Ser Gly Met Pro Gly Arg
 515 520 525

Asn Cys Ala Arg Val Phe Leu Lys Gln Gln Arg Arg Phe Trp
 530 535 540

45

<210> 13

<211> 776

50

<212> DNA

<213> Bradyrhizobium sp.

5

<220>

<221> CDS

10

<222> (1)..(774)

<223>

15

<400> 13

	atg cat gca gca acc gcc aag gct act gag ttc ggg gcc tct cgg cgc	48
	Met His Ala Ala Thr Ala Lys Ala Thr Glu Phe Gly Ala Ser Arg Arg	
20	1 5 10 15	
	gac gat gcg agg cag cgc cgc gtc ggt ctc acg ctg gcc gcg gtc atc	96
	Asp Asp Ala Arg Gln Arg Arg Val Gly Leu Thr Leu Ala Ala Val Ile	
	20 25 30	
25	atc gcc gcc tgg ctg gtg ctg cat gtc ggt ctg atg ttc ttc tgg ccg	144
	Ile Ala Ala Trp Leu Val Leu His Val Gly Leu Met Phe Phe Trp Pro	
	35 40 45	
30	ctg acc ctt cac agc ctg ctg ccg gct ttg cct ctg gtg gtg ctg cag	192
	Leu Thr Leu His Ser Leu Leu Pro Ala Leu Pro Leu Val Val Leu Gln	
	50 55 60	
	acc tgg ctc tat gta ggc ctg ttc atc atc gcg cat gac tgc atg cac	240
35	Thr Trp Leu Tyr Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Cys Met His	
	65 70 75 80	
	ggc tcg ctg gtg ccg ttc aag ccg cag gtc aac cgc cgt atc gga cag	288
	Gly Ser Leu Val Pro Phe Lys Pro Gln Val Asn Arg Arg Ile Gly Gln	
40	85 90 95	
	ctc tgc ctg ttc ctc tat gcc ggg ttc tcc ttc gac gct ctc aat gtc	336
	Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Phe Asp Ala Leu Asn Val	
	100 105 110	
45	gag cac cac aag cat cac cgc cat ccc ggc acg gcc gag gat ccc gat	384
	Glu His His Lys His His Arg His Pro Gly Thr Ala Glu Asp Pro Asp	
	115 120 125	
50	ttc gac gag gtg ccg ccg cac ggc ttc tgg cac tgg ttc gcc agc ttt	432

Phe Asp Glu Val Pro Pro His Gly Phe Trp His Trp Phe Ala Ser Phe
 130 135 140

5 ttc ctg cac tat ttc ggc tgg aag cag gtc gcg atc atc gca gcc gtc 480
 Phe Leu His Tyr Phe Gly Trp Lys Gln Val Ala Ile Ile Ala Ala Val
 145 150 155 160

10 tcg ctg gtt tat cag ctc gtc ttc gcc gtt ccc ttg cag aac atc ctg 528
 Ser Leu Val Tyr Gln Leu Val Phe Ala Val Pro Leu Gln Asn Ile Leu
 165 170 175

15 ctg ttc tgg gcg ctg ccc ggg ctg ctg tcg gcg ctg cag ctg ttc acc 576
 Leu Phe Trp Ala Leu Pro Gly Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr
 180 185 190

20 ttc ggc acc tat ctg ccg cac aag ccg gcc acg cag ccc ttc gcc gat 624
 Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Ala Thr Gln Pro Phe Ala Asp
 195 200 205

25 cgc cac aac gcg cgg acg agc gaa ttt ccc gcg tgg ctg tcg ctg ctg 672
 Arg His Asn Ala Arg Thr Ser Glu Phe Pro Ala Trp Leu Ser Leu Leu
 210 215 220

30 acc tgc ttc cac ttc ggc ttt cat cac gag cat cat ctg cat ccc gat 720
 Thr Cys Phe His Phe Gly Phe His His Glu His His Leu His Pro Asp
 225 230 235 240

35 gcg ccg tgg tgg cgg ctg ccg gag atc aag cgg cgg gcc ctg gaa agg 768
 Ala Pro Trp Trp Arg Leu Pro Glu Ile Lys Arg Arg Ala Leu Glu Arg
 245 250 255

40 cgt gac ta 776
 Arg Asp

45 <210> 14

50 <211> 258

<212> PRT

<213> Bradyrhizobium sp.

<400> 14

Met His Ala Ala Thr Ala Lys Ala Thr Glu Phe Gly Ala Ser Arg Arg
 1 5 10 15

Asp Asp Ala Arg Gln Arg Arg Val Gly Leu Thr Leu Ala Ala Val Ile
 20 25 30
 5

Ile Ala Ala Trp Leu Val Leu His Val Gly Leu Met Phe Phe Trp Pro
 35 40 45

10
 Leu Thr Leu His Ser Leu Leu Pro Ala Leu Pro Leu Val Val Leu Gln
 50 55 60

15 Thr Trp Leu Tyr Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala His Asp Cys Met His
 65 70 75 80

20 Gly Ser Leu Val Pro Phe Lys Pro Gln Val Asn Arg Arg Ile Gly Gln
 85 90 95

Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Phe Asp Ala Leu Asn Val
 100 105 110

25
 Glu His His Lys His His Arg His Pro Gly Thr Ala Glu, Asp Pro Asp
 115 120 125

30
 Phe Asp Glu Val Pro Pro His Gly Phe Trp His Trp Phe Ala Ser Phe
 130 135 140

35 Phe Leu His Tyr Phe Gly Trp Lys Gln Val Ala Ile Ile Ala Ala Val
 145 150 155 160

40 Ser Leu Val Tyr Gln Leu Val Phe Ala Val Pro Leu Gln Asn Ile Leu
 165 170 175

Leu Phe Trp Ala Leu Pro Gly Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr
 180 185 190

45
 Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Ala Thr Gln Pro Phe Ala Asp
 195 200 205

50

30

Arg His Asn Ala Arg Thr Ser Glu Phe Pro Ala Trp Leu Ser Leu Leu
 210 215 220

5 Thr Cys Phe His Phe Gly Phe His His Glu His His Leu His Pro Asp
 225 230 235 240

10 Ala Pro Trp Trp Arg Leu Pro Glu Ile Lys Arg Arg Ala Leu Glu Arg
 245 250 255

Arg Asp

15

<210> 15

<211> 777

20

<212> DNA

<213> Nostoc sp.

25

<220>

<221> CDS

30

<222> (1)..(777)

<223>

35

<400> 15

atg gtt cag tgt caa cca tca tct ctg cat tca gaa aaa ctg gtg tta
 Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu Lys Leu Val Leu

48

40

1 5 10 15
 ttg tca tgc aca atc aga gat gat aaa aat att aat aag ggt ata ttt
 Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn Lys Gly Ile Phe
 20 25 30

96

45

att gcc tgc ttt atc tta ttt tta tgg gca att agt tta atc tta tta
 Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser Leu Ile Leu Leu
 35 40 45

144

50

ctc tca ata gat aca tcc ata att cat aag agc tta tta ggt ata gcc

192

tct tta taa
Ser Leu

5

<210> 16

<211> 258

10

<212> PRT

<213> Nostoc sp.

15

<400> 16

20 Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu Lys Leu Val Leu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn Lys Gly Ile Phe
20 25 30

25

Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser Leu Ile Leu Leu
35 40 45

30

Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser Leu Leu Gly Ile Ala
50 55 60

35

Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His
65 70 75 80

40

Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn Pro Arg Ile Asn Asn
85 90 95

Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Lys
100 105 110

45

Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly His Pro Gly Thr Asp
115 120 125

50

Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln Asn Phe Phe Leu Trp
 130 135 140

5 Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp Thr Gln Ile Phe Gly
 145 150 155 160

10 Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu Val His Ile Pro Glu
 165 170 175

15 Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser Ile Leu Ser Ser Val
 180 185 190

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Lys Lys Leu Glu Gly
 195 200 205

20 Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile Pro Leu Pro Leu Phe
 210 215 220

25 Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Lys Glu His His
 225 230 235 240

30 Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro Glu Ala His Lys Ile
 245 250 255

Ser Leu

35

<210> 17

<211> 2093

40

<212> DNA

<213> Tomate

45

<220>

<221> promoter

50

<222> (1) .. (2093)

<223>

5

<400> 17

	tttgccagta ttacaacagc ttatatgttg agcaggtaaa agcttcaatg ccctattctt	60
10	tctacagtta tcaatgttgc tcgtctaata tctggtgttc ttctcgaaat gtcaattggc	120
	ttgcagcaca ttgtcctcta atatccattc aagcttotta gatgatgaaa catttgtcaa	180
	atattattaat ttcatagtgt tcagtctcaa ttcttttagct gggttcctcat agtaaagttg	240
15	tctaatatga aatgaaaatg ttctgtgtgt tgtactaata ccttttcatg gttgtctata	300
	gaacgtcgat gaagagccaa acagaaacta ttttgggctg cgatttctga taccattgta	360
20	tctgaatgct ggggtggagc tcatcagaag ctttacaatg ggtcacatat atggagccgg	420
	tatgaggaat gctgggaatc agttgcgttt cgcgtgctag gacttttctt tcttgggtatt	480
	tctgcccaca gccagttga ttacgtgaac tccgtcagac ttggaaagga gagaagtacc	540
25	caaatgtcgt ctttttagaa atacttttgt cacaaaatag cgggggtttac agctacagaa	600
	gatcatgcag aaggcgtcca gtttagtttt tgaaggttgt ttggagtta tttatctaaa	660
30	gtaaacttaa atcagctttt tgtttatgag ttcagtgaac tataatgttca aataagactt	720
	ccctttgtag atatgtgttt tttttgttgt tgagcacttt gtgtgcattg gataaacccc	780
	caacgtgtaa tagctaccat acaagagaag taactcgcac tgtccatgtc ttatgtggct	840
35	cgactcagaa agcattcagg gggattgata accaccctcc aaaccaactg aaccattgtg	900
	aataaccacc cttcaaatca accgagtcct cgtgaaggac aaatatgtgg ttttatatac	960
40	attaaatttt gtttttacat gtttctctt acttcttttag ttttcttgac catatcttgc	1020
	gtttttccct tctgtaattg acacttttct tcaaaccatc cagcaatgtg gaagcttgac	1080
	gatttttctt cagagtagaa attgaaaaga atcaactaaa aaggatagtc cttcgatttg	1140
45	atttccggct taaaaataaa ctaataagaa tgagagagcg aataatagaa tattttgaaa	1200
	ttttaaagat attcaactat gttaaattgc gttataaatt tcttaaatta gtagcaccta	1260
50	atagtttagt tctcaaaagt caaaactact acataatgtg ctcatttttc acattaaaat	1320

gcctacatga tgtaaaagta aaactcgtag cattctacgt gttttactca actcaaacat 1380

cctgttcatt ttaataaacg tacgatgagc ttctctctcc aattttcttt tctttttttt 1440

5 ttttaaaaaa atattttttt ttatatcaat ccaaattggc tccaatttat cataaattag 1500

gtagaaactt agatattaaa gaaagaaaag ggtttatctc gcaagtgtgg ctatggtggg 1560

10 acgtgtcaaa ttttggattg tagccaaaca tgagatttga tttaaaggga attggccaaa 1620

tcaccgaaag caggcatctt catcataaat tagtttgttt atttatacag aattatacgc 1680

ttttactagt tatagcattc ggtatctttt tctgggtaac tgccaaacca ccacaaattt 1740

15 caagtttcca ttttaactctt caacttcaac ccaaccaaatt ttatttgctt aattgtgcag 1800

aaccactccc tatatcttct aggtgctttc attcggtccg aggtaagaaa agatttttgt 1860

20 ttctttgaat gctttatgcc actcgtttta cttctgaggt ttgtggatct tttaggcgac 1920

tttttttttt tttgtatgta aaatttgttt cataaatgct tctcaacata aatcttgaca 1980

aagagaagga attttaccaa gtatttaggt tcagaaatgg ataattttct tactgtgaaa 2040

25 tatecttatg gcaggtttta ctgttatttt tcagtaaaat gcctcaaatt gga 2093

<210> 18

30 <211> 4760

<212> DNA

35 <213> Tomato

<220>

40 <221> promoter

<222> (1) .. (4760)

45 <223>

<400> 18

50 tctagattga aataaacctt attgcattta gtatatgaga atgcatctat aaaataatgt 60

	ctatTTTTtg tggaaaatat ttgtgcgcca aagcacgggt tgtatTTTtat atTTTacaat	120
	atTTTtgcac ggtaatatag ttgcaagggt ttacaaaacga attatctctt gaactTTtaaa	180
5	ttaggttcac agTTtatcc aaaaataatg ttcaacttct aatcatatct cccctattg	240
	ctagaaaaat ataacattta cgcCCAactt catttaggat ccattTTTtat gcatgggtgga	300
10	gcaattggat catatactac atatTTTTTT aaaaaaata gatagaaatt atttaattctt	360
	gattccgaat caattgtgat gggaaaacct tattagTTtg atgtgtacat ataattgttt	420
	atgtcaaata aatttatTTT atactaaatt ttatttgaaa gtatTTTtct cataacaaat	480
15	aatttaacta tattggagac atgaaaattc tacaaaacca acttgcatta tcaacataat	540
	tttatagttt gaaattgtgc tcttaattaa acaattcaag ataacaatct ggtaaaaatta	600
20	aaattacaag ttgataacaa acatatacat atgtacatct catagatgca ttcattaaat	660
	catataatag taaatgcttc acaatagaag ggtctatatt cattTTTTTT ttatgtgtca	720
	aacaattTTg aggaattcaa tttcatcttt aactggTaca ataatcattt tatcatgaaa	780
25	ataagcagct caagagaatt tttgaagaat cttttatttc ttttaacattt aaccacatga	840
	atTTTTaatt tttttttgca atacatttaa accgaaatgg tcaaacgatc aaccaactga	900
30	tctttattct aataaaacttc tagtttacat ttgcatgtga gtgcatcatc attatcatat	960
	ttgtacacaa caaacaagaa aaaaatataa acaatatttt atttaaatat ttatattcca	1020
	ctttgactgt agatattaaa tcttgtcatc atttatagtc tcaatattat aattTTTTta	1080
35	TTTTTTcaaa attcaaaagt ttacaattat tttttgaac tataatatta tccaagatga	1140
	acatctcaag aagaaaatta ttaatatgtt tatggTtaaa atTTTacata caatactgt	1200
40	TTTTtgcttt actTTtatct tacogtagat acacaatcga cgataactta gtgatcacac	1260
	aataataatt atTTTgttca tgacacaata tttataagaa atacttattt ctttctTTta	1320
	tccttcagta gttcataata aaacataacc ataatatTTg tgatgcattc atagtacgta	1380
45	atgaaatgac aatttatgtc aaattatttt cttttatact ctcaaactc ccgtaaaggT	1440
	gagatgagtc atTTatccaa ttatacataa atatgtcttt attcatgtct tttatcacat	1500
50	tctgacacat tcaacttaatt tcaagagtaa gcaagcatga taactgaaac tatttatgcg	1560

	tatcttacct tgatatttga cacattacat gacacacctc aacatcactt tcaaagatta	1620
	agcgcaccac catattatct ttcttttttt ttttatgaag gttttataaa attattaaat	1680
5	taggtccaaa aaattgtttg tcaaataacc ttttatacta gattgatgac aaaaattacc	1740
	tttacgtttt gaaagaccat tttaagacct aatctatcag tgactcctta aagttggcac	1800
10	aatatttcac ttagacaccc taattgaatg atgttcattt taaacacca atgtagggtt	1860
	ccgctatatac attttgacac atttcttaac atcaacaaaa atatataatg agtatgtgat	1920
	atactgcga atgacgtgaa aaatgaagac atttgttatt tgtatcaaag tagttactaa	1980
15	ataattaatt ttgaataaaa ataaaagctg accagtaaata caataacaca taatattttc	2040
	cacctaataa ttaaaatata aaataaaaaa gagccatctc aggggtcatct gccaccatt	2100
20	gctatttcaa agaaatttgt acgttagttt atagaaattg atgttaaaat tctttcaaga	2160
	aaaatttatg aatgaattta ttctctaatt taaaaatatt ttctgttatt tttgttgaaa	2220
	gaaatttaac ttggataaaa tgggtggttaa aactggaaag aagaaaagag aaaaaataat	2280
25	taaaaatcat ttcacgtctc aatcaatgag cgtatcacat tcattatgtt atataagcaa	2340
	aagtgacaaa acgaaaataa tatattacat gaaatgtcta aaataaatac cgtctaatta	2400
30	aaatatctaa gtaacatatt gtgcctaact ttagagggat catcaataag ttaaacccca	2460
	ttttaataac tcataattgt cctttttatt taatattgtc acaaatacaca atgataatta	2520
	acattaattt gtcccttgtg acgtccatat tcatgcattt aaccaatcat cttcatttgg	2580
35	acttattatc acaattatcc cactttcctc acaaaatgga gcattcaagt ggaatagact	2640
	acacgatttt taatttcac caaaacatct ttttgcttta ttcattatta tattgtcgct	2700
40	attgttgaat tttatttgcc cttaaatttct taccataaat agatttttct tttagaaaaa	2760
	ggagattgac taattctttt cttgtaggaa aagggttagg actctataaa tagagacata	2820
	ttccttctaa cttaataaac atttacaatg tagtctttaa gactttgaaa gtttttggtt	2880
45	agggggagaa attgtgggtc acaagcttga tacgttatca attgtgtaaa cctcccatgt	2940
	attctgagtg aatttggttg aggttggttc cctctgtatt ttgtactctc atatttatag	3000
50	tggattgttc atctctttcg tggacgtagg tcgattgacc gtcgattgac cgaaccacgt	3060

taaatctttg tattttttga tatattttctc attatcttct tactcgtgat ctttcaagggt 3120
 ttgcattgct atcttccgcg ttacaccaac ttatttacga tcctaacagc tatgggtgtgg 3180
 5 aaacataaat caaacatttt actgatataa acacatcttt gattataaca tgatagaaat 3240
 ttgagcccaa ctttttatca tcattatata caaaaagttc taaatttttt ttttgatgta 3300
 10 gtaaaactta aatccatagt cttgccccta aaccaatgac ataatatata acccaaaaata 3360
 tactagtttt cgccctcgag ccctttaaaa agtatagtca atatttacgg tgaccgtgaa 3420
 tttcttaatt atgatataa atttaaaaga aatcatgatc acattctact gatgagaaca 3480
 15 tgtgctaatac aagggaaaac atggatgtga aaaatacttt ttgttaaaag taaaaaaaaa 3540
 tgtgaaatth tttagttat ttactaccta tacattatth gagcatgtgc aaactttaca 3600
 20 aatacctaath agaagattth cacctgcttg tatatatgta aattaattat aatgaacact 3660
 ctcacataaa ataattatca gtatatacat taatacttgc cctccacaat gaattaaata 3720
 aaatgtagaa catgatctac acttcaataa aactaagacc ataaagaata atttcaaaat 3780
 25 atacacatgt caacaataaa ttatttgcatt attatattaa cttactaaac aatctttact 3840
 tttgaaatat aaaaataatc aagttataag tctgctcaaa gttaaagcact tgttagactc 3900
 30 atctgattth gagaaggtaa gcaaattgat ggtgcataat agtcacaagt aaaatataaa 3960
 atagattthca ttagtaaaat tgttttttac tttctttata tataattatc aatatccttc 4020
 aatggtaggt taattatatt gttaacttct tgttgaatta aagcaataag acaagaatat 4080
 35 taaagataaa agaacaataa aaatagaaag actaagagat aagagtthtc ttattcttct 4140
 ttcaataagt atcatcaagt gtatacaata taaatttttg tatttttgat ctatctatth 4200
 40 ataatgttat atataagcat acaaagatc agtcataaat atgactthaa tcatgaaaat 4260
 aatgaaagag attatgaagg cgtaaggtha ctagaataat agtcattaaa aaaaggggtt 4320
 atctttataa ttgaataatt gatgaagtaa tggagataat tagtgagcat aaattttttt 4380
 45 aaaaaaatgg acattttacac tataatattt tataacactt tcccttaaac atctaggtat 4440
 aaataatgag tcttgtcaaa atcttagtag gaaaaattct gtgaaattht tttagtgaat 4500
 50 acaaatgata taaatatctt gaatactcat tattgttgt ctcattaaa atcttatctg 4560

acctataaaa taaattatTTt gctcaactca aaatagTTTTt tcattctaaa attagtataa 4620
 ttattagtga atatttaatt aacataattg tataactaagg ggcctataaa ttggattctt 4680
 5 ctcaaagaaa aataaaatca ccacacaact ttcttcttct gctcatcaat tagcaattaa 4740
 tccaaaacca ttatggctgc 4760
 10
 <210> 19
 <211> 1229
 15 <212> DNA
 <213> Tomate
 20
 <220>
 <221> promoter
 25 <222> (1)..(1229)
 <223>
 30
 <400> 19
 gatcttactt taccataatg gtgaaaagga tagagacca catggTTTTt acttcgTTat 60
 agagacaaga tgaaaacaaa tctaaaatTTt aatattatag atggatagat gatggacaac 120
 35 aaaaagagaa aagaagatac tggtcattgg tccaaaacag ccaccCGaat caatatatga 180
 ccgaaaaaca aaagctacag aatcatatct gtgcaacggT gccacagtgc tataggatag 240
 40 cacaaccaca ctgtcacata aaaaagagga ttttgactc gttttagatg gagtttcgta 300
 attttcgggT ctttcaagct taaatatata cttcattaaa gcttcgaatt ttgtaatgTt 360
 caattctacc tctttgatgt tcgataccta taaaataatt aaataaacgt atagacgtag 420
 45 gaacaattaa gcgaggttag atagtgcatt tatgattcta cctgtgagtG caatggtaaa 480
 atggacatta taaaagagta ggggcaaaga ggggaagtga aaattctccc cacttagcca 540
 50 tgtttaatat agtagggata ggaatatgta ataagtagtg tttttctat ttaattttct 600

gtatacttct tccatctcct ttaattatta aaagggttttc ctctctttac tctttctctc 660
 taaattacta ttctgaagta ttttttcttt tataaaaaga gtaataaact ttatttccat 720
 5 taaaagaaca aacaacaaga aatgataatc aaatacacat tcatattttt aaaaaaaaaag 780
 ttaaacaaga tatagaaata gttatcaa atatttatgt tgtcattcct tgtatacaat 840
 10 ggcattcctt tagctttggt tatgtatttc ctgagcttct cttagtgtac tatatccttt 900
 aatattaatg catctttcga tcttgctaag atatgataaa aatagacgac acgtgtcaca 960
 acctaattga gatatttcga tgtactttct atccgtctta gcttgtaatt aattattggt 1020
 15 aaaaaagaat actcaattaa ctagaaacaa gaaataagaa acgaaaacat tacaaaacgg 1080
 agttgaagcg tgcaaatttg tggaaatgat tgttatcatg aaccagaaaa cattaaataa 1140
 20 ctcttcctat aaaaggccct tattcttcac tttctcaa atcacgtcctaa agatatcaaa 1200
 gatttcaact gatagcaaaa agcactact 1229

 25 <210> 20
 <211> 845
 <212> DNA
 30 <213> Tomato

 35 <220>
 <221> promoter
 <222> (1)..(845)
 40 <223>

 45 <400> 20
 ctgttattga atttctataa aatgttataa tattgatttc ttaatgatca gttaactacg 60
 tgattatttg atatgttttt aatctaaaat gtgatatgta aaatatagaa gaaaaaaaaat 120
 50 taaaaagaac tttaagaaaa aaatttcaac ccacccaac ctaaaatcct aggtccgcca 180

5 tggtaattat agatatatga tgatgaaggg caaatattgg tctatgagaa tttcgggtgat 240
 actaccgctt gaagagcaat aatgggttttg ggactccgat gagggaaaca ttcaaatatg 300
 10 atggattttg gtgatactat gtttaccoga gctagctatc acagaataat ctacatccca 360
 caaatgaaat atgttatagg ctaccaatta ggaagtagtg gaattatgaa gaagtaggga 420
 15 tgtgcaaata taagagaaaa tttgaaaatt atgattgaaa caagttatgt ttttttaact 480
 agatgaatta aatgggtttta agattttag atttataatc aaacaattac cgctactcta 540
 tcggtgacta ccaattccat cattgtaaat aacaaataac agattcgttg ctggatgtct 600
 20 tagtgccgtg aagcctacaa atcacactat aaactgctta gctctcgagc gttactaatt 660
 tggtgattac caattccaac attgcgactt cttctactag tagtactaaa atagcaagta 720
 atatgcattt gtggttaagat gtttggtggt aacctttcct aaccagacta taaatgacct 780
 caacactata gtggagtttc atcgatcatc attctaaacg aaaaacttga agtgaaagca 840
 tcaag 845
 25 <210> 21
 <211> 3417
 30 <212> DNA
 <213> Tomato
 35 <220>
 <221> promoter
 40 <222> (1) .. (3417)
 <223>
 45 <400> 21
 aagcttggct gcaggctcgac ctgcagggtca acggatcaat gccttggttaa taatatgaaa 60
 50 ataagacgta aaagaagtct tgcatatgca ccataatatt agacttatgg acaaaagtaa 120

	gttggttcaa attacgcttt tatttatcca catagcaaga aaataatact caaaatccaa	180
	cggtatcggt tattttatat ttactctac atgtatatat gtagtataat ggacataaat	240
5	tctgtcgtaa ttatacatat attaataatg aggattgtaa aataatatgc aaaaacgtcg	300
	tatttgacat actaatagct aaaatactac ctactatcat atataattag ttaactatgt	360
10	gccttttaag aaaaattacg tgaaataaca aatatttaga gcatattatg taatatagct	420
	gtagttttat tattttttgt taatggctac aatttcgcaa aattttccta ttttgtttct	480
	taatcgtata aatccaaatt ttgtataatt atgaccttaa ttgtttaatt cagatttcgt	540
15	ataaaattcg atttttgatt ttataaatta aaattttatac ttacttttagc tacttgttta	600
	tgatttatca aaaaattcat attaatctat ttgtatatgg acaagcaaaa tatacaaatg	660
20	gagttctgaa aattttctaaa tgcataact taatatcttt gatggtcact caactatcaa	720
	ctttttccat aaaaagtcac ttaacattga ttttcaactc gaaaatcact caactatgaa	780
	atctttgtat agaaagtcac tcaacctatt taattatttt tttccattat atctgttgtc	840
25	acgaaatatt atttctaact aatattctaa gaataaacat acatccattt aatcattta	900
	ataaaccgc ccacttgacc taaccacat aatattaaca cttttgtttt acttttattc	960
30	tccaaaatta ttttcttggg ttccattct ttctccttg cttttttttt cttcttctca	1020
	atttcagcct ttttcttctt ttttttagta aacctcagtc aaataggaat tagattgtga	1080
	ttaaaatatt attagaagga tgcagggttg taciaagaga gtttattaag agataatcta	1140
35	taaaaaaaa aaagtcagat aatgcatatt cagattcaga gatcattaaa tgatgacttt	1200
	tttcgtaata ggttttcttt aaatcctttc gccttcatac gacgactctc gataataaca	1260
40	tcgtttaaag ctaataatgc taatgaacaa taatcaaaat aaaaaagaat tcggatacaa	1320
	gagaaaatga tttagtgaga gaaaaaattg agatattcct tattcctaac taaacgaagg	1380
	aagaagaggc taaaattgag attcagttta aaaaaaaaaa caaagaaaaa cgcaatggag	1440
45	atgagagaaa gtaattttga aaaataaaaa taaattaaga gggtaaataat tttattttta	1500
	gcgagttggg ttaagtggg cgggtcatta aatggatata tgtrttatttc ttaaaatttt	1560
50	agttagaaat acaaatttca aatcaacaaa ttttaatgaa aaaataatta aatagggtga	1620

	gtggctttct atgcaaagat ctcatagttg agtgatTTTT gagtagaaaa tcatagttaa	1680
5	gtgagtttct gtgaaaaaaaa attgatagtt gagtgactat caaagatatt aactctagac	1740
	ttgtcatatt cgtatactta catacgaaat atacaaacct ctgcctccat gacaagcaaa	1800
	aaactataac tatgaaacaa ttttttcgaa atcatagcta taaagtctta ttatatctaa	1860
10	tatctttact attttttaaaa atttcacata attttaatac ataaataatt tacttttaac	1920
	taacgaaaaa ggacattttt atgtcacctg agagcccatc ggtagattca tcacattttt	1980
15	tcgtttcttg taataaactg tacacatata aggagaaatt aaattagaga ttatttttcc	2040
	attttgagga gattaataaa tttaaaatgt aacttaacat gttaaactgct ataaaggtaa	2100
	caaaacacgt aaactgctat aaaggtaatt ctattttaaaa gataaataaa tgcttaaaag	2160
20	aagtgccaaa aaaacacaaa caaacaatg aaactaaacc tacttcaagg gaagttcttg	2220
	tagtataaaa ataaataaag tcaacttatt cacgacattt ctttttggtt ttcttttggc	2280
25	tacgtattca tttttaagtc tgactaattt agattctcgc tatatataaa agattcaggg	2340
	gtggctcaac gcaattggag gcctagagca aaatttcaat tcgcggccta atatattata	2400
	tactttatat acctatttat tcaaaattta ttttttttac actatttaga tggaaattat	2460
30	tagtacttaa tattgttttt tcagttatta gttttaggta aaattttatt aataacaacat	2520
	tgaaaaacat cttttaagtg agacaattat tatatgtatt gttaacatag tgctataagt	2580
35	aataagtaaa taaatattaa ataaaaata gagtaagaac catagaattt gacacaagaa	2640
	gttgatgact tggatatacct cattttaaca tgcttgact ttagtaatgc ttgaatctaa	2700
	aatttaaaaa gaaataaaaa agaatttgta atccactttt tccaacactt ttactgtta	2760
40	attcttattt ttaacatagt acaaaaaata ttaaaatgga taaaataatt tattttataa	2820
	aagattatat atatattttt ttatcatata taactaattt ttctataaaa atttaaacac	2880
45	ataatttaat ttttaaaaaa atttggggct ttggggccta agacaaaggc cttaaaggac	2940
	aaaacataga gccgccctg aaaagatctc attcgaaaga aaatatgcat taccaatgat	3000
	ttttcgtacc cagagctcaa aatcaaaatt gtactgttat ttttttaaaa aatttcactt	3060
50	cagactaaat ggaatttttt tcttttggtta acctgtttga tcaatctttt ggaatcagtt	3120

aattttgaaa aataaattaa tgagaaataa tttgtatttg tccagcttat ttaagaatta 3180
 tttttgagca acaatttata tttagtcacg cttttaagtg tatttttttaa aataaaatta 3240
 5 aggtattatt tgaaaaaatt acttttaaaa aaattgaatt aaattctgtt actcttatta 3300
 tatactocta tataatttga ttgccaaaaa tatcaaactg ttaatatattg aagttgatgt 3360
 10 gagggattac ttcttgatta aattgtacta caatgtaata ttatcaaatt aaagctt 3417

 <210> 22
 15 <211> 1155
 <212> DNA
 <213> Haematococcus pluvialis
 20
 <220>
 25 <221> CDS
 <222> (6)..(995)
 <223>
 30
 <400> 22
 35 gaagc atg cag cta gca gcg aca gta atg ttg gag cag ctt acc gga agc 50
 Met Gln Leu Ala Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser
 1 5 10 15
 gct gag gca ctc aag gag aag gag aag gag gtt gca ggc agc tct gac 98
 Ala Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp
 40 20 25 30
 gtg ttg cgt aca tgg gcg acc cag tac tcg ctt ccg tca gag gag tca 146
 Val Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser
 35 40 45
 45 gac gcg gcc cgc ccg gga ctg aag aat gcc tac aag cca cca cct tcc 194
 Asp Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser
 50 55 60
 50 gac aca aag ggc atc aca atg gcg cta gct gtc atc ggc tcc tgg gcc 242

45

	Asp Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Ala Val Ile Gly Ser Trp Ala	
	65 70 75	
5	gca gtg ttc ctc cac gcc att ttt caa atc aag ctt ccg acc tcc ttg Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu	290
	80 85 90 95	
10	gac cag ctg cac tgg ctg ccc gtg tca gat gcc aca gct cag ctg gtt Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val	338
	100 105 110	
15	agc ggc agc agc agc ctg ctg cac atc gtc gta gta ttc ttt gtc ctg Ser Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu	386
	115 120 125	
20	gag ttc ctg tac aca ggc ctt ttt atc acc acg cat gat gct atg cat Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His	434
	130 135 140	
25	ggc acc atc gcc atg aga aac agg cag ctt aat gac ttc ttg ggc aga Gly Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg	482
	145 150 155	
30	gta tgc atc tcc ttg tac gcc tgg ttt gat tac aac atg ctg cac cgc Val Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg	530
	160 165 170 175	
35	aag cat tgg gag cac cac aac cac act ggc gag gtg ggc aag gac cct Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro	578
	180 185 190	
40	gac ttc cac agg gga aac cct ggc att gtg ccc tgg ttt gcc agc ttc Asp Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe	626
	195 200 205	
45	atg tcc agc tac atg tcg atg tgg cag ttt gcg cgc ctc gca tgg tgg Met Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp	674
	210 215 220	
50	acg gtg gtc atg cag ctg ctg ggt gcg cca atg gcg aac ctg ctg gtg Thr Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val	722
	225 230 235	
55	ttc atg gcg gcc gcg ccc atc ctg tcc gcc ttc cgc ttg ttc tac ttt Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe	770
	240 245 250 255	
60	ggc acg tac atg ccc cac aag cct gag cct ggc gcc gcg tca ggc tct Gly Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser	818
	260 265 270	

tca cca gcc gtc atg aac tgg tgg aag tcg cgc act agc cag gcg tcc 866
 Ser Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser
 275 280 285

5 gac ctg gtc agc ttt ctg acc tgc tac cac ttc gac ctg cac tgg gag 914
 Asp Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu
 290 295 300

10 cac cac cgc tgg ccc ttt gcc ccc tgg tgg gag ctg ccc aac tgc cgc 962
 His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg
 305 310 315

15 cgc ctg tct ggc cga ggt ctg gtt cct gcc tag ctggacacac tgcagtgggc 1015
 Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala
 320 325

20 cctgctgccca gctgggcatg caggttgtgg caggactggg tgaggtgaaa agctgcaggc 1075
 gctgctgccg gacacgctgc atgggctacc ctgtgtagct gccgccacta ggggaggggg 1135
 tttgtagctg tcgagcttgc 1155

25 <210> 23
 <211> 329
 <212> PRT

30 <213> Haematococcus pluvialis

35 <400> 23
 Met Gln Leu Ala Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala
 1 5 10 15

40 Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val
 20 25 30

45 Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp
 35 40 45

50 Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp
 50 55 60

Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Ala Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala
 65 70 75 80
 5

Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp
 85 90 95
 10

Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser
 100 105 110
 15

Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu
 115 120 125
 20

Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly
 130 135 140
 25

Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val
 145 150 155 160
 30

Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys
 165 170 175
 35

Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met
 195 200 205
 40

Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr
 210 215 220
 45

Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe
 225 230 235 240
 50

Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly
 245 250 255

Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser
 260 265 270

5 Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp
 275 280 285

10 Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His
 290 295 300

15 His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg
 305 310 315 320

Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala
 325

20 <210> 24
 <211> 1111

25 <212> DNA
 <213> Haematococcus pluvialis

30 <220>
 <221> CDS
 35 <222> (4)..(951)
 <223>

40 <400> 24
 tgc atg cta gag gca ctc aag gag aag gag aag gag gtt gca ggc agc 48
 Met Leu Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser
 1 5 10 15
 45 tct gac gtg ttg cgt aca tgg gcg acc cag tac tcg ctt ccg tca gaa 96
 Ser Asp Val Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu
 20 25 30
 50 gag tca gac gcg gcc cgc ccg gga ctg aag aat gcc tac aag cca cca 144

	Glu Ser Asp Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro	
	35 40 45	
5	cct tcc gac aca aag ggc atc aca atg gcg cta gct gtc atc ggc tcc Pro Ser Asp Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Ala Val Ile Gly Ser	192
	50 55 60	
10	tgg gcc gca gtg ttc ctc cac gcc att ttt caa atc aag ctt ccg acc Trp Ala Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr	240
	65 70 75	
15	tcc ttg gac cag ctg cac tgg ctg ccc gtg tca gat gcc aca gct cag Ser Leu Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln	288
	80 85 90 95	
20	ctg gtt agc ggc agc agc agc ctg ctg cac atc gtc gta gta ttc ttt Leu Val Ser Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Val Val Val Phe Phe	336
	100 105 110	
25	gtc ctg gag ttc ctg tac aca ggc ctt ttt atc acc acg cat gat gct Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala	384
	115 120 125	
30	atg cat ggc acc atc gcc atg aga aac agg cag ctt aat gac ttc ttg Met His Gly Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu	432
	130 135 140	
35	ggc aga gta tgc atc tcc ttg tac gcc tgg ttt gat tac aac atg ctg Gly Arg Val Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu	480
	145 150 155	
40	cac cgc aag cat tgg gag cac cac aac cac act ggc gag gtg ggc aag His Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys	528
	160 165 170 175	
45	gac cct gac ttc cac agg gga aac cct ggc att gtg ccc tgg ttt gcc Asp Pro Asp Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala	576
	180 185 190	
50	agc ttc atg tcc agc tac atg tcg atg tgg cag ttt gcg cgc ctc gca Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala	624
	195 200 205	
55	tgg tgg acg gtg gtc atg cag ctg ctg ggt gcg cca atg gcg aac ctg Trp Trp Thr Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu	672
	210 215 220	
60	ctg gtg ttc atg gcg gcc gcg ccc atc ctg tcc gcc ttc cgc ttg ttc Leu Val Phe Met Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe	720
	225 230 235	

tac ttt ggc acg tac atg ccc cac aag cct gag cct ggc gcc gcg tca 768
 Tyr Phe Gly Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser
 240 245 250 255
 5 ggc tct tca cca gcc gtc atg aac tgg tgg aag tcg cgc act agc cag 816
 Gly Ser Ser Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln
 260 265 270
 10 gcg tcc gac ctg gtc agc ttt ctg acc tgc tac cac ttc gac ctg cac 864
 Ala Ser Asp Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His
 275 280 285
 15 tgg gag cac cac cgc tgg ccc ttc gcc ccc tgg tgg gag ctg ccc aac 912
 Trp Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn
 290 295 300
 20 tgc cgc cgc ctg tct ggc cga ggt ctg gtt cct gcc tag ctggacacac 961
 Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala
 305 310 315
 tgcagtgggc cctgctgcca gctgggcatg caggttgtgg caggactggg tgaggtgaaa 1021
 agctgcaggc gctgctgccg gacacgttgc atgggctacc ctgtgtagct gccgccacta 1081
 25 ggggagggggg tttgtagctg tcgagcttgc 1111
 <210> 25
 30 <211> 315
 <212> PRT
 35 <213> Haematococcus pluvialis
 <400> 25
 40 Met Leu Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser
 1 5 10 15
 45 Asp Val Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu
 20 25 30
 Ser Asp Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro
 50 35 40 45

Ser Asp Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Ala Val Ile Gly Ser Trp
 50 55 60
 5

Ala Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser
 65 70 75 80

10 Leu Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu
 85 90 95

15 Val Ser Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Val Val Val Phe Phe Val
 100 105 110

20 Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met
 115 120 125

His Gly Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly
 130 135 140
 25

Arg Val Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His
 145 150 155 160

30 Arg Lys His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp
 165 170 175

35 Pro Asp Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser
 180 185 190

40 Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp
 195 200 205

Trp Thr Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu
 210 215 220
 45

Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr
 225 230 235 240

50

52

Phe Gly Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly
 245 250 255

5 Ser Ser Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala
 260 265 270

10 Ser Asp Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp
 275 280 285

15 Glu His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys
 290 295 300

Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala
 305 310 315

20 <210> 26
 <211> 1031

25 <212> DNA
 <213> Haematococcus pluvialis

30 <220>
 <221> CDS

35 <222> (6)..(1031)
 <223>

40 <400> 26
 gaagc atg cag cta gca gcg aca gta atg ttg gag cag ctt acc gga agc 50
 Met Gln Leu Ala Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser
 1 5 10 15
 45 gct gag gca ctc aag gag aag gag aag gag gtt gca ggc agc tct gac 98
 Ala Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp
 20 25 30
 50 gtg ttg cgt aca tgg gcg acc cag tac tcg ctt ccg tca gag gag tca 146

53

	Val	Leu	Arg	Thr	Trp	Ala	Thr	Gln	Tyr	Ser	Leu	Pro	Ser	Glu	Glu	Ser	
				35					40					45			
5	gac	gcg	gcc	cgc	ccg	gga	ctg	aag	aat	gcc	tac	aag	cca	cca	cct	tcc	194
	Asp	Ala	Ala	Arg	Pro	Gly	Leu	Lys	Asn	Ala	Tyr	Lys	Pro	Pro	Pro	Ser	
				50				55					60				
10	gac	aca	aag	ggc	atc	aca	atg	gcg	cta	gct	gtc	atc	ggc	tcc	tgg	gct	242
	Asp	Thr	Lys	Gly	Ile	Thr	Met	Ala	Leu	Ala	Val	Ile	Gly	Ser	Trp	Ala	
				65			70					75					
15	gca	gtg	ttc	ctc	cac	gcc	att	ttt	caa	atc	aag	ctt	ccg	acc	tcc	ttg	290
	Ala	Val	Phe	Leu	His	Ala	Ile	Phe	Gln	Ile	Lys	Leu	Pro	Thr	Ser	Leu	
	80					85					90					95	
	gac	cag	ctg	cac	tgg	ctg	ccc	gtg	tca	gat	gcc	aca	gct	cag	ctg	gtt	338
	Asp	Gln	Leu	His	Trp	Leu	Pro	Val	Ser	Asp	Ala	Thr	Ala	Gln	Leu	Val	
					100					105					110		
20	agc	ggc	agc	agc	agc	ctg	ctg	cac	atc	gtc	gta	gta	ttc	ttt	gtc	ctg	386
	Ser	Gly	Ser	Ser	Ser	Leu	Leu	His	Ile	Val	Val	Val	Phe	Phe	Val	Leu	
					115				120						125		
25	gag	ttc	ctg	tac	aca	ggc	ctt	ttt	atc	acc	acg	cat	gat	gct	atg	cat	434
	Glu	Phe	Leu	Tyr	Thr	Gly	Leu	Phe	Ile	Thr	Thr	His	Asp	Ala	Met	His	
				130				135						140			
30	ggc	acc	atc	gcc	atg	aga	aac	agg	cag	ctt	aat	gac	ttc	ttg	ggc	aga	482
	Gly	Thr	Ile	Ala	Met	Arg	Asn	Arg	Gln	Leu	Asn	Asp	Phe	Leu	Gly	Arg	
		145					150					155					
35	gta	tgc	atc	tcc	ttg	tac	gcc	tgg	ttt	gat	tac	aac	atg	ctg	cac	cgc	530
	Val	Cys	Ile	Ser	Leu	Tyr	Ala	Trp	Phe	Asp	Tyr	Asn	Met	Leu	His	Arg	
	160					165				170					175		
	aag	cat	tgg	gag	cac	cac	aac	cac	act	ggc	gag	gtg	ggc	aag	gac	cct	578
	Lys	His	Trp	Glu	His	His	Asn	His	Thr	Gly	Glu	Val	Gly	Lys	Asp	Pro	
					180					185					190		
40	gac	ttc	cac	agg	gga	aac	cct	ggc	att	gtg	ccc	tgg	ttt	gcc	agc	ttc	626
	Asp	Phe	His	Arg	Gly	Asn	Pro	Gly	Ile	Val	Pro	Trp	Phe	Ala	Ser	Phe	
					195				200					205			
45	atg	tcc	agc	tac	atg	tcg	atg	tgg	cag	ttt	gcg	cgc	ctc	gca	tgg	tgg	674
	Met	Ser	Ser	Tyr	Met	Ser	Met	Trp	Gln	Phe	Ala	Arg	Leu	Ala	Trp	Trp	
				210				215						220			
50	acg	gtg	gtc	atg	cag	ctg	ctg	ggc	gcg	cca	atg	gcg	aac	ctg	ctg	gtg	722
	Thr	Val	Val	Met	Gln	Leu	Leu	Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asn	Leu	Leu	Val	
		225					230					235					

ttc atg gcg gcc gcg ccc atc ctg tcc gcc ttc cgc ttg ttc tac ttt 770
 Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe
 240 245 250 255
 5
 ggc acg tac atg ccc cac aag cct gag cct gcc gcc gcg tca ggc tct 818
 Gly Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser
 260 265 270
 10
 tca cca gcc gtc atg aac tgg tgg aag tgc cgc act agc cag gcg tcc 866
 Ser Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser
 275 280 285
 15
 gac ctg gtc agc ttt ctg acc tgc tac cac ttc gac ctg cac tgg gag 914
 Asp Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu
 290 295 300
 20
 cac cac cgc tgg ccc ttt gcc ccc tgg tgg gag ctg ccc aac tgc cgc 962
 His His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg
 305 310 315
 25
 cgc ctg tct ggc cga ggt ctg gtt cct gcc gag caa aaa ctc atc tca 1010
 Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser
 320 325 330 335
 30
 gaa gag gat ctg aat agc tag 1031
 Glu Glu Asp Leu Asn Ser
 340
 35
 <210> 27
 <211> 341
 <212> PRT
 <213> Haematococcus pluvialis
 40
 <400> 27
 Met Gln Leu Ala Ala Thr Val Met Leu Glu Gln Leu Thr Gly Ser Ala
 1 5 10 15
 45
 Glu Ala Leu Lys Glu Lys Glu Lys Glu Val Ala Gly Ser Ser Asp Val
 20 25 30
 50

55

Leu Arg Thr Trp Ala Thr Gln Tyr Ser Leu Pro Ser Glu Glu Ser Asp
 35 40 45

5 Ala Ala Arg Pro Gly Leu Lys Asn Ala Tyr Lys Pro Pro Pro Ser Asp
 50 55 60

10 Thr Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Ala Val Ile Gly Ser Trp Ala Ala
 65 70 75 80

15 Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile Lys Leu Pro Thr Ser Leu Asp
 85 90 95

Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Asp Ala Thr Ala Gln Leu Val Ser
 100 105 110

20 Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Val Val Val Phe Phe Val Leu Glu
 115 120 125

25 Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Thr His Asp Ala Met His Gly
 130 135 140

30 Thr Ile Ala Met Arg Asn Arg Gln Leu Asn Asp Phe Leu Gly Arg Val
 145 150 155 160

35 Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp Tyr Asn Met Leu His Arg Lys
 165 170 175

His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys Asp Pro Asp
 180 185 190

40 Phe His Arg Gly Asn Pro Gly Ile Val Pro Trp Phe Ala Ser Phe Met
 195 200 205

45 Ser Ser Tyr Met Ser Met Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala Trp Trp Thr
 210 215 220

50 Val Val Met Gln Leu Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu Leu Val Phe
 225 230 235 240

Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe Tyr Phe Gly
245 250 255

5

Thr Tyr Met Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Ala Ala Ser Gly Ser Ser
260 265 270

10

Pro Ala Val Met Asn Trp Trp Lys Ser Arg Thr Ser Gln Ala Ser Asp
275 280 285

15

Leu Val Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu His Trp Glu His
290 295 300

20

His Arg Trp Pro Phe Ala Pro Trp Trp Glu Leu Pro Asn Cys Arg Arg
305 310 315 320

Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val Pro Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
325 330 335

25

Glu Asp Leu Asn Ser
340

30

<210> 28

<211> 777

35

<212> DNA

<213> Arabidopsis thaliana

40

<220>

<221> promoter

45

<222> (1) .. (777)

<223>

50

<400> 28
 gagctcactc actgatttcc attgcttgaa aattgatgat gaactaagat caatccatgt 60
 tagtttcaaa acaacagtaa ctgtggccaa cttagttttg aaacaacact aactggtcga 120
 5 agcaaaaaga aaaaagagtt tcatcatata tctgatttga tggactgttt ggagtttagga 180
 ccaaacatta tctacaaaca aagacttttc tcttaacttg tgattccttc ttaaacccta 240
 10 ggggtaatat tctattttcc aaggatcttt agttaaggc aaatccggga aattattgta 300
 atcatttggg gaaacatata aaagatttga gttagatgga agtgacgatt aatccaaaca 360
 tatatatctc tttcttctta tttcccaaata taacagacaa aagtagaata ttggctttta 420
 15 acaccaatat aaaaacttgc ttcacaccta aacacttttg tttacttttag ggtaagtgca 480
 aaaagccaac caaatccacc tgcactgatt tgacgtttac aaacgccgtt aagtcgatgt 540
 20 ccgttgattt aaacagtgtc ttgtaattaa aaaaatcagt ttacataaat ggaaaattta 600
 tcacttagtt ttcatcaact tctgaactta ctttcatgg attaggcaat actttccatt 660
 tttagtaact caagtggacc ctttacttct tcaactccat ctctctcttt ctatttcact 720
 25 tctttcttct cattatatct cttgtcctct ccaccaaata tcttcaacaa aaagctt 777

 <210> 29
 30 <211> 22
 <212> DNA
 35 <213> kuenstlich

 <220>
 40 <221> primer_bind
 <222> (1)..(22)
 45 <223>

 <400> 29
 50 gcaagctcga cagctacaaa cc 22

<210> 30

5 <211> 24

<212> DNA

<213> kuenstlich

10

<220>

15 <221> primer_bind

<222> (1)..(24)

<223>

20

<400> 30

gaagcatgca gctagcagcg acag

24

25

<210> 31

<211> 30

30

<212> DNA

<213> kuenstlich

35

<220>

<221> primer_bind

40

<222> (1)..(30)

<223>

45

<400> 31

tgcatgctag aggcaactcaa ggagaaggag

30

50

<210> 32

<211> 59

5 <212> DNA

<213> kuenstlich

10

<220>

<221> primer_bind

15 <222> (1)..(59)

<223>

20

<400> 32

ctagctattc agatcctctt ctgagatgag tttttgctcg gcaggaacca gacctcggc

59

25 <210> 33

<211> 28

<212> DNA

30

<213> kuenstlich

35 <220>

<221> primer_bind

<222> (1)..(28)

40

<223>

45 <400> 33

gagctcactc actgatttcc attgcttg

28

<210> 34

50

<211> 37

<212> DNA

5 <213> kuenstlich

<220>

10

<221> primer_bind

<222> (1)..(37)

15 <223>

<400> 34

20 cgccggttaag tcgatgtccg ttgatttaaa cagtgtc

37

<210> 35

25 <211> 34

<212> DNA

<213> kuenstlich

30

<220>

35 <221> primer_bind

<222> (1)..(34)

<223>

40

<400> 35

45 atcaacggac atcgacttaa cggcgtttgt aaac

34

<210> 36

<211> 25

50

<212> DNA

<213> kuenstlich

5

<220>

<221> primer_bind

10

<222> (1)..(25)

<223>

15

<400> 36

taagcttttt gttgaagaga tttgg

25

20

<210> 37

<211> 831

25

<212> DNA

<213> Haematococcus pluvialis

30

<220>

<221> CDS

35

<222> (1)..(831)

<223>

40

<400> 37

atg cca tcc gag tcg tca gac gca gct cgt cct gtg ttg aag cac gcc
 Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Val Leu Lys His Ala
 1 5 10 15

48

45

tat aaa cct cca gca tct gac gcc aag ggc atc act atg gcg ctg acc
 Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr
 20 25 30

96

50

atc att ggc acc tgg acc gca gtg ttt tta cac gca ata ttc caa atc

144

	Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile	
	35 40 45	
5	agg cta ccg aca tcc atg gac cag ctt cac tgg ttg cct gtg tcc gaa Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu	192
	50 55 60	
10	gcc aca gcc cag ctg ttg ggc gga agc agc agc cta ttg cac atc gcc Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala	240
	65 70 75 80	
15	gca gtc ttc att gta ctt gag ttt ctg tac act ggt cta ttc atc acc Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr	288
	85 90 95	
20	acg cat gat gca atg cat ggc acc ata gct ttg agg aac agg cag ctc Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg Asn Arg Gln Leu	336
	100 105 110	
25	aat gat ctc ctt ggc aac atc tgc ata tca ctg tac gcc tgg ttt gac Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp	384
	115 120 125	
30	tac agc atg cac tgg gag cac cac aac cat act ggc gaa gtg ggg aaa Tyr Ser Met His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys	432
	130 135 140	
35	gac cct gac ttc cac aaa gga aat cct ggc ctt gtc ccc tgg ttc gcc Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe Ala	480
	145 150 155 160	
40	agc ttc atg tcc agc tac atg tcc ctg tgg cag ttt gcc cgg ctg gca Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala	528
	165 170 175	
45	tgg tgg gca gtg gtg atg caa acg ttg ggg gcc ccc atg gcg aat ctc Trp Trp Ala Val Val Met Gln Thr Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu	576
	180 185 190	
50	cta gtc ttc atg gct gca gcc cca atc ttg tca gca ttc cgc ctc ttc Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe	624
	195 200 205	
55	tac ttc ggc act tac ctg cca cac aag cct gag cca ggc cct gca gca Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala Ala	672
	210 215 220	
60	ggc tct cag gtc atg tct tgg ttc agg gcc aag aca agt gag gca tct Gly Ser Gln Val Met Ser Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala Ser	720
	225 230 235 240	

gat gtg atg agc ttc ctg aca tgc tac cac ttt gac ctg ttt gcc ccc 768
 Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu Phe Ala Pro
 245 250 255

5 tgg tgg cag ctg ccc cac tgc cgc cgc ctg tct ggg cgt ggc ctg gtg 816
 Trp Trp Gln Leu Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val
 260 265 270

10 cct gcc ttg gca tga 831
 Pro Ala Leu Ala
 275

15 <210> 38
 <211> 276
 <212> PRT
 20 <213> Haematococcus pluvialis

25 <400> 38
 Met Pro Ser Glu Ser Ser Asp Ala Ala Arg Pro Val Leu Lys His Ala
 1 5 10 15

30 Tyr Lys Pro Pro Ala Ser Asp Ala Lys Gly Ile Thr Met Ala Leu Thr
 20 25 30

35 Ile Ile Gly Thr Trp Thr Ala Val Phe Leu His Ala Ile Phe Gln Ile
 35 40 45

40 Arg Leu Pro Thr Ser Met Asp Gln Leu His Trp Leu Pro Val Ser Glu
 50 55 60

45 Ala Thr Ala Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ser Ser Leu Leu His Ile Ala
 65 70 75 80

Ala Val Phe Ile Val Leu Glu Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr
 85 90 95

50

64

Thr His Asp Ala Met His Gly Thr Ile Ala Leu Arg Asn Arg Gln Leu
 100 105 110

5 Asn Asp Leu Leu Gly Asn Ile Cys Ile Ser Leu Tyr Ala Trp Phe Asp
 115 120 125

10 Tyr Ser Met His Trp Glu His His Asn His Thr Gly Glu Val Gly Lys
 130 135 140

15 Asp Pro Asp Phe His Lys Gly Asn Pro Gly Leu Val Pro Trp Phe Ala
 145 150 155 160

Ser Phe Met Ser Ser Tyr Met Ser Leu Trp Gln Phe Ala Arg Leu Ala
 165 170 175

20 Trp Trp Ala Val Val Met Gln Thr Leu Gly Ala Pro Met Ala Asn Leu
 180 185 190

25 Leu Val Phe Met Ala Ala Ala Pro Ile Leu Ser Ala Phe Arg Leu Phe
 195 200 205

30 Tyr Phe Gly Thr Tyr Leu Pro His Lys Pro Glu Pro Gly Pro Ala Ala
 210 215 220

35 Gly Ser Gln Val Met Ser Trp Phe Arg Ala Lys Thr Ser Glu Ala Ser
 225 230 235 240

Asp Val Met Ser Phe Leu Thr Cys Tyr His Phe Asp Leu Phe Ala Pro
 245 250 255

40 Trp Trp Gln Leu Pro His Cys Arg Arg Leu Ser Gly Arg Gly Leu Val
 260 265 270

45 Pro Ala Leu Ala
 275

50 <210> 39

<211> 729

<212> DNA

5 <213> Paracoccus sp. MBIC1143

<220>

10

<221> CDS

<222> (1)..(729)

15 <223>

<400> 39

20 atg agc gca cat gcc ctg ccc aag gca gat ctg acc gcc acc agc ctg 48
 Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
 1 5 10 15

25 atc gtc tcg ggc ggc atc atc gcc gct tgg ctg gcc ctg cat gtg cat 96
 Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His
 20 25 30

30 gcg ctg tgg ttt ctg gac gca gcg gcg cat ccc atc ctg gcg atc gca 144
 Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala
 35 40 45

aat ttc ctg ggg ctg acc tgg ctg tcg gtc gga ttg ttc atc atc gcg 192
 Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala
 50 55 60

35 cat gac gcg atg cac ggg tcg gtg gtg ccg ggg cgt ccg cgc gcc aat 240
 His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn
 65 70 75 80

40 gcg gcg atg ggc cag ctt gtc ctg tgg ctg tat gcc gga ttt tcg tgg 288
 Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp
 85 90 95

45 cgc aag atg atc gtc aag cac atg gcc cat cac cgc cat gcc gga acc 336
 Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr
 100 105 110

50 gac gac gac ccc gat ttc gac cat ggc ggc ccg gtc cgc tgg tac gcc 384
 Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala
 115 120 125

cgc ttc atc ggc acc tat ttc ggc tgg cgc gag ggg ctg ctg ctg ccc 432
 Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro
 130 135 140

5

gtc atc gtg acg gtc tat gcg ctg atc ctt ggg gat cgc tgg atg tac 480
 Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr
 145 150 155 160

10

gtg gtc ttc tgg ccg ctg ccg tcg atc ctg gcg tcg atc cag ctg ttc 528
 Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe
 165 170 175

15

gtg ttc ggc acc tgg ctg ccg cac cgc ccc ggc cac gac gcg ttc ccg 576
 Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro
 180 185 190

20

gac cgc cac aat gcg cgg tcg tcg cgg atc agc gac ccc gtg tcg ctg 624
 Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu
 195 200 205

25

ctg acc tgc ttt cac ttt ggc ggt tat cat cac gaa cac cac ctg cac 672
 Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His
 210 215 220

30

ccg acg gtg ccg tgg tgg cgc ctg ccc agc acc cgc acc aag ggg gac 720
 Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

35

acc gca tga 729
 Thr Ala

40

<210> 40
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> Paracoccus sp. MBIC1143

45

<400> 40
 Met Ser Ala His Ala Leu Pro Lys Ala Asp Leu Thr Ala Thr Ser Leu
 1 5 10 15

50

67

	Ile Val Ser Gly Gly Ile Ile Ala Ala Trp Leu Ala Leu His Val His	
	20 25 30	
5	Ala Leu Trp Phe Leu Asp Ala Ala Ala His Pro Ile Leu Ala Ile Ala	
	35 40 45	
10	Asn Phe Leu Gly Leu Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu Phe Ile Ile Ala	
	50 55 60	
15	His Asp Ala Met His Gly Ser Val Val Pro Gly Arg Pro Arg Ala Asn	
	65 70 75 80	
20	Ala Ala Met Gly Gln Leu Val Leu Trp Leu Tyr Ala Gly Phe Ser Trp	
	85 90 95	
25	Arg Lys Met Ile Val Lys His Met Ala His His Arg His Ala Gly Thr	
	100 105 110	
30	Asp Asp Asp Pro Asp Phe Asp His Gly Gly Pro Val Arg Trp Tyr Ala	
	115 120 125	
35	Arg Phe Ile Gly Thr Tyr Phe Gly Trp Arg Glu Gly Leu Leu Leu Pro	
	130 135 140	
40	Val Ile Val Thr Val Tyr Ala Leu Ile Leu Gly Asp Arg Trp Met Tyr	
	145 150 155 160	
45	Val Val Phe Trp Pro Leu Pro Ser Ile Leu Ala Ser Ile Gln Leu Phe	
	165 170 175	
50	Val Phe Gly Thr Trp Leu Pro His Arg Pro Gly His Asp Ala Phe Pro	
	180 185 190	
55	Asp Arg His Asn Ala Arg Ser Ser Arg Ile Ser Asp Pro Val Ser Leu	
	195 200 205	
60	Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Gly Tyr His His Glu His His Leu His	
	210 215 220	

Pro Thr Val Pro Trp Trp Arg Leu Pro Ser Thr Arg Thr Lys Gly Asp
 225 230 235 240

5

Thr Ala

10

<210> 41

<211> 735

15

<212> DNA

<213> Brevundimonas aurantiaca

20

<220>

<221> CDS

25

<222> (1)..(735)

<223>

30

<400> 41

atg acc gcc gcc gtc gcc gag cca cgc acc gtc ccg cgc cag acc tgg 48
 Met Thr Ala Ala Val Ala Glu Pro Arg Thr Val Pro Arg Gln Thr Trp
 1 5 10 15

35

atc ggt ctg acc ctg gcg gga atg atc gtg gcg gga tgg gcg gtt ctg 96
 Ile Gly Leu Thr Leu Ala Gly Met Ile Val Ala Gly Trp Ala Val Leu
 20 25 30

40

cat gtc tac gcc gtc tat ttt cac cga tgg ggg ccg ttg acc ctg gtg 144
 His Val Tyr Gly Val Tyr Phe His Arg Trp Gly Pro Leu Thr Leu Val
 35 40 45

45

atc gcc ccg gcg atc gtg gcg gtc cag acc tgg ttg tcg gtc gcc ctt 192
 Ile Ala Pro Ala Ile Val Ala Val Gln Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu
 50 55 60

50

ttc atc gtc gcc cat gac gcc atg tac gcc tcc ctg gcg ccg gga cgg 240
 Phe Ile Val Ala His Asp Ala Met Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Arg
 65 70 75 80

	ccg cgg ctg aac gcc gca gtc ggc cgg ctg acc ctg ggg ctc tat gcg	288
	Pro Arg Leu Asn Ala Ala Val Gly Arg Leu Thr Leu Gly Leu Tyr Ala	
	85 90 95	
5	ggc ttc cgc ttc gat cgg ctg aag acg gcg cac cac gcc cac cac gcc	336
	Gly Phe Arg Phe Asp Arg Leu Lys Thr Ala His His Ala His His Ala	
	100 105 110	
10	gcg ccc ggc acg gcc gac gac ccg gat ttt cac gcc ccg gcg ccc cgc	384
	Ala Pro Gly Thr Ala Asp Asp Pro Asp Phe His Ala Pro Ala Pro Arg	
	115 120 125	
15	gcc ttc ctt ccc tgg ttc ctg aac ttc ttt cgc acc tat ttc ggc tgg	432
	Ala Phe Leu Pro Trp Phe Leu Asn Phe Phe Arg Thr Tyr Phe Gly Trp	
	130 135 140	
20	cgc gag atg gcg gtc ctg acc gcc ctg gtc ctg atc gcc ctc ttc ggc	480
	Arg Glu Met Ala Val Leu Thr Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Gly	
	145 150 155 160	
25	ctg ggg gcg cgg ccg gcc aat ctc ctg acc ttc tgg gcc gcg ccg gcc	528
	Leu Gly Ala Arg Pro Ala Asn Leu Leu Thr Phe Trp Ala Ala Pro Ala	
	165 170 175	
30	ctg ctt tca gcg ctt cag ctc ttc acc ttc ggc acc tgg ctg ccg cac	576
	Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Thr Trp'Leu Pro His	
	180 185 190	
35	cgc cac acc gac cag ccg ttc gcc gac gcg cac cac gcc cgc agc agc	624
	Arg His Thr Asp Gln Pro Phe Ala Asp Ala His His Ala Arg Ser Ser	
	195 200 205	
40	ggc tac ggc ccc gtg ctt tcc ctg ctc acc tgt ttc cac ttc ggc cgc	672
	Gly Tyr Gly Pro Val Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Arg	
	210 215 220	
45	cac cac gaa cac cat ctg agc ccc tgg cgg ccc tgg tgg cgt ctg tgg	720
	His His Glu His His Leu Ser Pro Trp Arg Pro Trp Trp Arg Leu Trp	
	225 230 235 240	
50	cgc ggc gag tct tga	735
	Arg Gly Glu Ser	

<210> 42

<211> 244

<212> PRT

<213> Brevundimonas aurantiaca

5

<400> 42

10 Met Thr Ala Ala Val Ala Glu Pro Arg Thr Val Pro Arg Gln Thr Trp
1 5 10 15

15 Ile Gly Leu Thr Leu Ala Gly Met Ile Val Ala Gly Trp Ala Val Leu
20 25 30

20 His Val Tyr Gly Val Tyr Phe His Arg Trp Gly Pro Leu Thr Leu Val
35 40 45

Ile Ala Pro Ala Ile Val Ala Val Gln Thr Trp Leu Ser Val Gly Leu
50 55 60

25 Phe Ile Val Ala His Asp Ala Met Tyr Gly Ser Leu Ala Pro Gly Arg
65 70 75 80

30 Pro Arg Leu Asn Ala Ala Val Gly Arg Leu Thr Leu Gly Leu Tyr Ala
85 90 95

35 Gly Phe Arg Phe Asp Arg Leu Lys Thr Ala His His Ala His His Ala
100 105 110

Ala Pro Gly Thr Ala Asp Asp Pro Asp Phe His Ala Pro Ala Pro Arg
115 120 125

40 Ala Phe Leu Pro Trp Phe Leu Asn Phe Phe Arg Thr Tyr Phe Gly Trp
130 135 140

45 Arg Glu Met Ala Val Leu Thr Ala Leu Val Leu Ile Ala Leu Phe Gly
145 150 155 160

50 Leu Gly Ala Arg Pro Ala Asn Leu Leu Thr Phe Trp Ala Ala Pro Ala
165 170 175

5 Leu Leu Ser Ala Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Thr Trp Leu Pro His
 180 185 190

10 Arg His Thr Asp Gln Pro Phe Ala Asp Ala His His Ala Arg Ser Ser
 195 200 205

15 Gly Tyr Gly Pro Val Leu Ser Leu Leu Thr Cys Phe His Phe Gly Arg
 210 215 220

20 His His Glu His His Leu Ser Pro Trp Arg Pro Trp Trp Arg Leu Trp
 225 230 235 240

25 Arg Gly Glu Ser

30 <210> 43

35 <211> 690

<212> DNA

40 <213> Nodularia spumigena NSOR10

45 <220>

50 <221> CDS

<222> (1)..(690)

<223>

48 <400> 43

45 atg gcg atc gcc att att agt ata tgg gct atc agc cta ggt ttg tta
 Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser Leu Gly Leu Leu
 1 5 10 15

96 ctt tat att gat ata tcc caa ttc aag ttt tgg atg ttg tta ccg ctc
 Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Leu
 20 25 30

	ata ttt tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca gct cat	144
	Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His	
	35 40 45	
5		
	gat gcc atg cat ggg gta gtt ttt ccc aaa aat ccc aaa atc aac cat	192
	Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro Lys Ile Asn His	
	50 55 60	
10		
	ttc att ggc tca ttg tgc ctg ttt ctt tat ggt ctt tta cct tat caa	240
	Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln	
	65 70 75 80	
15		
	aaa ctt tta aaa aag cat tgg cta cat cac cat aat cca gcc agt gaa	288
	Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Glu	
	85 90 95	
20		
	aca gat cca gat ttt cac aac ggg aag cag aaa aac ttt ttt gct tgg	336
	Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn Phe Phe Ala Trp	
	100 105 110	
25		
	tat tta tat ttt atg aag cgt tac tgg agt tgg tta caa att atc aca	384
	Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp Leu Gln Ile Ile Thr	
	115 120 125	
30		
	tta atg att att tat aac tta cta aaa tat ata tgg cat ttt cca gag	432
	Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp His Phe Pro Glu	
	130 135 140	
35		
	gat aat atg act tat ttt tgg gta gtt ccc tca att tta agt tct tta	480
	Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile Leu Ser Ser Leu	
	145 150 155 160	
40		
	caa tta ttt tat ttt gga act ttt cta ccc cac agt gag cct gta gaa	528
	Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Val Glu	
	165 170 175	
45		
	ggg tat aaa gag cct cat cgt tcc caa act att agc cgt ccc att tgg	576
	Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp	
	180 185 190	
50		
	tgg tca ttt ata act tgt tac cat ttt ggt tat cat tac gaa cat cat	624
	Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Tyr Glu His His	
	195 200 205	
55		
	gaa tac ccc cat gtt cct tgg tgg caa tta cca gaa att tat aaa atg	672
	Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Met	
	210 215 220	
60		
	tct aaa tca aat ttg tga	690

Ser Lys Ser Asn Leu
225

5 <210> 44

<211> 229

<212> PRT

10

<213> Nodularia spumigena NSOR10

15 <400> 44

Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser Leu Gly Leu Leu
1 5 10 15

20

Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Leu
20 25 30

25

Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His
35 40 45

30

Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro Lys Ile Asn His
50 55 60

35

Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln
65 70 75 80

Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Glu
85 90 95

40

Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn Phe Phe Ala Trp
100 105 110

45

Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp Leu Gln Ile Ile Thr
115 120 125

50

Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp His Phe Pro Glu
130 135 140

5 Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile Leu Ser Ser Leu
145 150 155 160

Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Val Glu
165 170 175

10 Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp
180 185 190

15 Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Tyr Glu His His
195 200 205

20 Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Met
210 215 220

25 Ser Lys Ser Asn Leu
225

<210> 45

<211> 789

<212> DNA

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<220>

<221> CDS

<222> (1) .. (789)

<223>

<400> 45

ttg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat gtt gca ata gag caa
Leu Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
1 5 10 15

48

	tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg gtg att gtc ata gta Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val	96
	20 25 30	
5	att att agt ctt tgg gta gct agt ttg gct ttt tta cta gct att aat Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn	144
	35 40 45	
10	tat gcc aaa gtc cca att tgg ttg ata cct att gca ata gtt tgg caa Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln	192
	50 55 60	
15	atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca cat gat gct atg cat Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His	240
	65 70 75 80	
20	ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aaa att aat aat ttt atc ggt tca Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser	288
	85 90 95	
25	cta gct gta gcg ctt tac gct gtg ttt cca tat caa cag atg tta aag Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys	336
	100 105 110	
30	aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc gaa gtt gac cca gat Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp	384
	115 120 125	
35	ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc tgg tat ctc cat ttc Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe	432
	130 135 140	
40	atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata gta cta act atc cta Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu	480
	145 150 155 160	
45	ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat caa ata aat ctc atc Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile	528
	165 170 175	
50	tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc att caa ctg ttt tat Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr	576
	180 185 190	
55	ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag aaa gga tat gtt tat Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr	624
	195 200 205	
60	ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act ttt ttg tca ttt atc	672

76

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile
210 215 220

5 gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat cat gag tat ccc cat 720
Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
225 230 235 240

10 gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag cag aga gta ttc aac 768
Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn
245 250 255

15 aat tca gta acc aat tgc taa 789
Asn Ser Val Thr Asn Ser
260

<210> 46

20 <211> 262

<212> PRT

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

25

<400> 46

30 Leu Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val Ala Ile Glu Gln
1 5 10 15

35 Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val Ile Val Ile Val
20 25 30

Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu Leu Ala Ile Asn
35 40 45

40 Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala Ile Val Trp Gln
50 55 60

45 Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His
65 70 75 80

50 Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn Phe Ile Gly Ser
85 90 95

Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln Gln Met Leu Lys
 100 105 110
 5

Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu Val Asp Pro Asp
 115 120 125

10

Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp Tyr Leu His Phe
 130 135 140

15

Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val Leu Thr Ile Leu
 145 150 155 160

20

Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln Ile Asn Leu Ile
 165 170 175

25

Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile Gln Leu Phe Tyr
 180 185 190

Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys Gly Tyr Val Tyr
 195 200 205

30

Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe Leu Ser Phe Ile
 210 215 220

35

Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
 225 230 235 240

40

Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln Arg Val Phe Asn
 245 250 255

45

Asn Ser Val Thr Asn Ser
 260

<210> 47

<211> 762

50

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct tgg tat ttt cat ttt 432

Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp Tyr Phe His Phe
 130 135 140

5 atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att gcg ttg act att att 480
 Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala Leu Thr Ile Ile
 145 150 155 160

10 tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca agt gat aat cta act 528
 Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser Asp Asn Leu Thr
 165 170 175

15 tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca tta caa tta ttc tat 576
 Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr
 180 185 190

20 ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata ggg ggt tat gtt cag 624
 Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly Gly Tyr Val Gln
 195 200 205

25 cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att tgg tgg tca ttt atc 672
 Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile
 210 215 220

acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat cac gaa tat cct cat 720
 Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
 225 230 235 240

30 att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa gca aaa tag 762
 Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
 245 250

<210> 48

35 <211> 253

<212> PRT

40 <213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

<400> 48

45 Val Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala Lys Leu Thr Pro
 1 5 10 15

50 Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe Ile Ala Ile Val
 20 25 30

50

Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His Glu Tyr Pro His
 225 230 235 240

5 Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala Lys
 245 250

<210> 49

10

<211> 1536

<212> DNA

15 <213> Deinococcus radiodurans R1

<220>

20

<221> CDS

<222> (1)..(1536)

25 <223>

<400> 49

30

atg ccg gat tac gac ctg atc gtc atg ggc gcg ggc cac aac gcg ctg
 Met Pro Asp Tyr Asp Leu Ile Val Met Gly Ala Gly His Asn Ala Leu
 1 5 10 15

48

35

gtg act gct gcc tac gcc gcc cgg gcg ggc ctg aaa gtc ggc gtg ttc
 Val Thr Ala Ala Tyr Ala Ala Arg Ala Gly Leu Lys Val Gly Val Phe
 20 25 30

96

40

gag cgg cgg cac ctc gtc ggc ggg gcg gtc agc acc gag gag gtc gtg
 Glu Arg Arg His Leu Val Gly Gly Ala Val Ser Thr Glu Glu Val Val
 35 40 45

144

ccc ggt tac cgc ttc gac tac ggc ggc agc gcc cac atc ctg att cgg
 Pro Gly Tyr Arg Phe Asp Tyr Gly Gly Ser Ala His Ile Leu Ile Arg
 50 55 60

192

45

atg acg ccc atc gtg cgc gaa ctc gaa ctc acg cgg cac ggg ctg cat
 Met Thr Pro Ile Val Arg Glu Leu Glu Leu Thr Arg His Gly Leu His
 65 70 75 80

240

50

tac ctc gaa gtg gac cct atg ttt cac gct tcc gac ggt gaa acg ccc

288

	Tyr	Leu	Glu	Val	Asp	Pro	Met	Phe	His	Ala	Ser	Asp	Gly	Glu	Thr	Pro	
	85					90					95						
5	tgg	ttc	att	cac	cgc	gac	gcc	ggg	cgg	acc	atc	cgc	gaa	ctg	gac	gaa	336
	Trp	Phe	Ile	His	Arg	Asp	Ala	Gly	Arg	Thr	Ile	Arg	Glu	Leu	Asp	Glu	
	100					105					110						
10	aag	ttt	ccc	ggg	cag	ggc	gac	gcc	tac	ggg	cgc	ttt	ctc	gac	gat	tgg	384
	Lys	Phe	Pro	Gly	Gln	Gly	Asp	Ala	Tyr	Gly	Arg	Phe	Leu	Asp	Asp	Trp	
	115					120					125						
15	aca	ccc	ttc	gcg	cgc	gcc	gtg	gcc	gac	ctg	ttc	aac	tcg	gcg	ccg	ggg	432
	Thr	Pro	Phe	Ala	Arg	Ala	Val	Ala	Asp	Leu	Phe	Asn	Ser	Ala	Pro	Gly	
	130					135					140						
20	ccg	ctc	gac	ctg	ggc	aaa	atg	gtg	atg	cgc	agc	ggc	cag	ggc	aag	gac	480
	Pro	Leu	Asp	Leu	Gly	Lys	Met	Val	Met	Arg	Ser	Gly	Gln	Gly	Lys	Asp	
	145					150					155					160	
25	tgg	aac	gag	cag	ctc	ccg	cgc	atc	ctg	cgg	ccc	tac	ggc	gac	gtg	gcg	528
	Trp	Asn	Glu	Gln	Leu	Pro	Arg	Ile	Leu	Arg	Pro	Tyr	Gly	Asp	Val	Ala	
	165					170					175						
30	cgc	gag	tac	ttc	agc	gag	gag	cgc	gtg	cgg	gct	ccc	ctg	acc	tgg	atg	576
	Arg	Glu	Tyr	Phe	Ser	Glu	Glu	Arg	Val	Arg	Ala	Pro	Leu	Thr	Trp	Met	
	180					185					190						
35	gcg	gcc	cag	agc	ggc	ccc	cca	ccc	tcg	gac	ccg	ctg	agc	gcg	ccc	ttt	624
	Ala	Ala	Gln	Ser	Gly	Pro	Pro	Pro	Ser	Asp	Pro	Leu	Ser	Ala	Pro	Phe	
	195					200					205						
40	ttg	ctg	tgg	cac	ccg	ctc	tac	cac	gaa	ggc	ggc	gtg	gcg	cgg	ccc	aaa	672
	Leu	Leu	Trp	His	Pro	Leu	Tyr	His	Glu	Gly	Gly	Val	Ala	Arg	Pro	Lys	
	210					215					220						
45	ggc	ggc	agc	ggc	ggc	ctg	acc	aaa	gcc	ctg	cgc	cgg	gcc	acc	gag	gcc	720
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Leu	Thr	Lys	Ala	Leu	Arg	Arg	Ala	Thr	Glu	Ala	
	225					230					235					240	
50	gaa	ggc	ggc	gag	gtc	ttc	acc	gac	gcg	ccg	gtc	aag	gaa	att	ctg	gtc	768
	Glu	Gly	Gly	Glu	Val	Phe	Thr	Asp	Ala	Pro	Val	Lys	Glu	Ile	Leu	Val	
	245					250					255						
55	aag	gac	ggc	aag	gcg	cag	ggc	atc	cgg	ctg	gaa	agc	ggc	gag	acg	tac	816
	Lys	Asp	Gly	Lys	Ala	Gln	Gly	Ile	Arg	Leu	Glu	Ser	Gly	Glu	Thr	Tyr	
	260					265					270						
60	acc	gcc	cgc	gcc	gtc	gtg	tcg	ggc	gtc	cac	atc	ctg	acc	act	gcg	aat	864
	Thr	Ala	Arg	Ala	Val	Val	Ser	Gly	Val	His	Ile	Leu	Thr	Thr	Ala	Asn	
	275					280					285						

	gcc ctg ccc gcc gaa tat gtc cct agc gcc gcc agg aat gtg cgc gtg	912
	Ala Leu Pro Ala Glu Tyr Val Pro Ser Ala Ala Arg Asn Val Arg Val	
	290 295 300	
5	ggc aac ggc ttc ggc atg att ttg cgc ctc gcc ctc agt gaa aaa gtc	960
	Gly Asn Gly Phe Gly Met Ile Leu Arg Leu Ala Leu Ser Glu Lys Val	
	305 310 315 320	
10	aaa tac cgt cac cac acc gag ccc gac tca cgc atc ggc ctg gga ttg	1008
	Lys Tyr Arg His His Thr Glu Pro Asp Ser Arg Ile Gly Leu Gly Leu	
	325 330 335	
15	ctg atc aaa aac gag cgg caa atc atg cag ggc tac ggc gaa tac ctc	1056
	Leu Ile Lys Asn Glu Arg Gln Ile Met Gln Gly Tyr Gly Glu Tyr Leu	
	340 345 350	
20	gcc ggg cag ccc acc acc gac ccg ccc ctc gtc gcc atg agc ttc agc	1104
	Ala Gly Gln Pro Thr Thr Asp Pro Pro Leu Val Ala Met Ser Phe Ser	
	355 360 365	
25	gcg gtg gac gac tcg ctc gcc cca ccg aac ggc gac gtg ttg tgg ctg	1152
	Ala Val Asp Asp Ser Leu Ala Pro Pro Asn Gly Asp Val Leu Trp Leu	
	370 375 380	
30	tgg gcg cag tac tac ccc ttc gag ctc gcc acc ggg agc tgg gaa acg	1200
	Trp Ala Gln Tyr Tyr Pro Phe Glu Leu Ala Thr Gly Ser Trp Glu Thr	
	385 390 395 400	
35	gcg ccg ggc acc cgc gac acg att gtg ggc gaa ctc gtg cag acg ccg	1296
	Ala Pro Gly Thr Arg Asp Thr Ile Val Gly Glu Leu Val Gln Thr Pro	
	420 425 430	
40	cag tgg ctg gaa acc aac ctc ggc ctg cac ccg ggc aac gtg atg cac	1344
	Gln Trp Leu Glu Thr Asn Leu Gly Leu His Arg Gly Asn Val Met His	
	435 440 445	
45	ctg gaa atg tcc ttc gac cag atg ttc tcc ttc cgc ccc tgg ctg aaa	1392
	Leu Glu Met Ser Phe Asp Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Trp Leu Lys	
	450 455 460	
50	gcg agc cag tac cgc tgg ccg ggc gtg cag ggg ctg tac ctc acc ggc	1440
	Ala Ser Gln Tyr Arg Trp Pro Gly Val Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Gly	
	465 470 475 480	
50	gcc agc acc cac ccc ggc gga ggc atc atg ggc gcc tcg gga cgc aac	1488

84

Ala Ser Thr His Pro Gly Gly Gly Ile Met Gly Ala Ser Gly Arg Asn
485 490 495

gcg gcg cgg gtc atc gtg aag gac ctg acg cgg agg cgc tgg aaa tga 1536
5 Ala Ala Arg Val Ile Val Lys Asp Leu Thr Arg Arg Arg Trp Lys
500 505 510

10 <210> 50
<211> 511
<212> PRT

15 <213> Deinococcus radiodurans R1

20 <400> 50
Met Pro Asp Tyr Asp Leu Ile Val Met Gly Ala Gly His Asn Ala Leu
1 5 10 15

25 Val Thr Ala Ala Tyr Ala Ala Arg Ala Gly Leu Lys Val Gly Val Phe
20 25 30

30 Glu Arg Arg His Leu Val Gly Gly Ala Val Ser Thr Glu Glu Val Val
35 40 45

35 Pro Gly Tyr Arg Phe Asp Tyr Gly Gly Ser Ala His Ile Leu Ile Arg
50 55 60

Met Thr Pro Ile Val Arg Glu Leu Glu Leu Thr Arg His Gly Leu His
65 70 75 80

40 Tyr Leu Glu Val Asp Pro Met Phe His Ala Ser Asp Gly Glu Thr Pro
85 90 95

45 Trp Phe Ile His Arg Asp Ala Gly Arg Thr Ile Arg Glu Leu Asp Glu
100 105 110

50 Lys Phe Pro Gly Gln Gly Asp Ala Tyr Gly Arg Phe Leu Asp Asp Trp
115 120 125

Thr Pro Phe Ala Arg Ala Val Ala Asp Leu Phe Asn Ser Ala Pro Gly
 130 135 140
 5

Pro Leu Asp Leu Gly Lys Met Val Met Arg Ser Gly Gln Gly Lys Asp
 145 150 155 160

10 Trp Asn Glu Gln Leu Pro Arg Ile Leu Arg Pro Tyr Gly Asp Val Ala
 165 170 175

15 Arg Glu Tyr Phe Ser Glu Glu Arg Val Arg Ala Pro Leu Thr Trp Met
 180 185 190

20 Ala Ala Gln Ser Gly Pro Pro Pro Ser Asp Pro Leu Ser Ala Pro Phe
 195 200 205

25 Leu Leu Trp His Pro Leu Tyr His Glu Gly Gly Val Ala Arg Pro Lys
 210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Leu Thr Lys Ala Leu Arg Arg Ala Thr Glu Ala
 225 230 235 240

30 Glu Gly Gly Glu Val Phe Thr Asp Ala Pro Val Lys Glu Ile Leu Val
 245 250 255

35 Lys Asp Gly Lys Ala Gln Gly Ile Arg Leu Glu Ser Gly Glu Thr Tyr
 260 265 270

40 Thr Ala Arg Ala Val Val Ser Gly Val His Ile Leu Thr Thr Ala Asn
 275 280 285

45 Ala Leu Pro Ala Glu Tyr Val Pro Ser Ala Ala Arg Asn Val Arg Val
 290 295 300

Gly Asn Gly Phe Gly Met Ile Leu Arg Leu Ala Leu Ser Glu Lys Val
 305 310 315 320

50

Lys Tyr Arg His His Thr Glu Pro Asp Ser Arg Ile Gly Leu Gly Leu
 325 330 335

5 Leu Ile Lys Asn Glu Arg Gln Ile Met Gln Gly Tyr Gly Glu Tyr Leu
 340 345 350

10 Ala Gly Gln Pro Thr Thr Asp Pro Pro Leu Val Ala Met Ser Phe Ser
 355 360 365

15 Ala Val Asp Asp Ser Leu Ala Pro Pro Asn Gly Asp Val Leu Trp Leu
 370 375 380

Trp Ala Gln Tyr Tyr Pro Phe Glu Leu Ala Thr Gly Ser Trp Glu Thr
 385 390 395 400

20 Arg Thr Ala Glu Ala Arg Glu Asn Ile Leu Arg Ala Phe Glu His Tyr
 405 410 415

25 Ala Pro Gly Thr Arg Asp Thr Ile Val Gly Glu Leu Val Gln Thr Pro
 420 425 430

30 Gln Trp Leu Glu Thr Asn Leu Gly Leu His Arg Gly Asn Val Met His
 435 440 445

35 Leu Glu Met Ser Phe Asp Gln Met Phe Ser Phe Arg Pro Trp Leu Lys
 450 455 460

Ala Ser Gln Tyr Arg Trp Pro Gly Val Gln Gly Leu Tyr Leu Thr Gly
 465 470 475 480

40 Ala Ser Thr His Pro Gly Gly Gly Ile Met Gly Ala Ser Gly Arg Asn
 485 490 495

45 Ala Ala Arg Val Ile Val Lys Asp Leu Thr Arg Arg Arg Trp Lys
 500 505 510

<210> 51

50

<211> 1608

<212> DNA

5 <213> Haematococcus pluvialis

<220>

10

<221> CDS

<222> (3)..(971)

15 <223>

<400> 51

20

ct aca ttt cac aag ccc gtg agc ggt gca agc gct ctg ccc cac atc 47
 Thr Phe His Lys Pro Val Ser Gly Ala Ser Ala Leu Pro His Ile
 1 5 10 15

25

ggc cca cct cct cat ctc cat cgg tca ttt gct gct acc acg atg ctg 95
 Gly Pro Pro Pro His Leu His Arg Ser Phe Ala Ala Thr Thr Met Leu
 20 25 30

30

tcg aag ctg cag tca atc agc gtc aag gcc cgc cgc gtt gaa cta gcc 143
 Ser Lys Leu Gln Ser Ile Ser Val Lys Ala Arg Arg Val Glu Leu Ala
 35 40 45

35

cgc gac atc acg cgg ccc aaa gtc tgc ctg cat gct cag cgg tgc tcg 191
 Arg Asp Ile Thr Arg Pro Lys Val Cys Leu His Ala Gln Arg Cys Ser
 50 55 60

tta gtt cgg ctg cga gtg gca gca cca cag aca gag gag gcg ctg gga 239
 Leu Val Arg Leu Arg Val Ala Ala Pro Gln Thr Glu Glu Ala Leu Gly
 65 70 75

40

acc gtg cag gct gcc ggc gcg ggc gat gag cac agc gcc gat gta gca 287
 Thr Val Gln Ala Ala Gly Ala Gly Asp Glu His Ser Ala Asp Val Ala
 80 85 90 95

45

ctc cag cag ctt gac cgg gct atc gca gag cgt cgt gcc cgg cgc aaa 335
 Leu Gln Gln Leu Asp Arg Ala Ile Ala Glu Arg Arg Ala Arg Arg Lys
 100 105 110

50

cgg gag cag ctg tca tac cag gct gcc gcc att gca gca tca att ggc 383
 Arg Glu Gln Leu Ser Tyr Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ala Ser Ile Gly
 115 120 125

	gtg tca ggc att gcc atc ttc gcc acc tac ctg aga ttt gcc atg cac	431
	Val Ser Gly Ile Ala Ile Phe Ala Thr Tyr Leu Arg Phe Ala Met His	
	130 135 140	
5	atg acc gtg ggc ggc gca gtg cca tgg ggt gaa gtg gct ggc act ctc	479
	Met Thr Val Gly Gly Ala Val Pro Trp Gly Glu Val Ala Gly Thr Leu	
	145 150 155	
10	ctc ttg gtg gtt ggt ggc gcg ctc ggc atg gag atg tat gcc cgc tat	527
	Leu Leu Val Val Gly Gly Ala Leu Gly Met Glu Met Tyr Ala Arg Tyr	
	160 165 170 175	
15	gca cac aaa gcc atc tgg cat gag tcg cct ctg ggc tgg ctg ctg cac	575
	Ala His Lys Ala Ile Trp His Glu Ser Pro Leu Gly Trp Leu Leu His	
	180 185 190	
20	aag agc cac cac aca cct cgc act gga ccc ttt gaa gcc aac gac ttg	623
	Lys Ser His His Thr Pro Arg Thr Gly Pro Phe Glu Ala Asn Asp Leu	
	195 200 205	
25	ttt gca atc atc aat gga ctg ccc gcc atg ctc ctg tgt acc ttt ggc	671
	Phe Ala Ile Ile Asn Gly Leu Pro Ala Met Leu Leu Cys Thr Phe Gly	
	210 215 220	
30	ttc tgg ctg ccc aac gtc ctg ggg gcg gcc tgc ttt gga gcg ggg ctg	719
	Phe Trp Leu Pro Asn Val Leu Gly Ala Ala Cys Phe Gly Ala Gly Leu	
	225 230 235	
35	ggc atc acg cta tac ggc atg gca tat atg ttt gta cac gat ggc ctg	767
	Gly Ile Thr Leu Tyr Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu	
	240 245 250 255	
40	gtg cac agg cgc ttt ccc acc ggg ccc atc gct ggc ctg ccc tac atg	815
	Val His Arg Arg Phe Pro Thr Gly Pro Ile Ala Gly Leu Pro Tyr Met	
	260 265 270	
45	aag cgc ctg aca gtg gcc cac cag cta cac cac agc ggc aag tac ggt	863
	Lys Arg Leu Thr Val Ala His Gln Leu His His Ser Gly Lys Tyr Gly	
	275 280 285	
50	ggc gcg ccc tgg ggt atg ttc ttg ggt cca cag gag ctg cag cac att	911
	Gly Ala Pro Trp Gly Met Phe Leu Gly Pro Gln Glu Leu Gln His Ile	
	290 295 300	
55	cca ggt gcg gcg gag gag gtg gag cga ctg gtc ctg gaa ctg gac tgg	959
	Pro Gly Ala Ala Glu Glu Val Glu Arg Leu Val Leu Glu Leu Asp Trp	
	305 310 315	
60	tcc aag cgg tag ggtgcggaac caggcacgct gggtttcacac ctcatgcctg	1011

Ser Lys Arg

320

5 tgataaggtg tggctagagc gatgcgtgtg agacgggtat gtcacggtcg actggtctga 1071
 tggccaatgg catcggccat gtctgggtcat cacgggctgg ttgcctgggt gaaggtgatg 1131
 cacatcatca tgtgcgggtg gaggggctgg cacagtgtgg gctgaactgg agcagttgtc 1191
 10 caggctggcg ttgaatcagt gagggtttgt gattggcggg tgtgaagcaa tgactccgcc 1251
 catattctat ttgtgggagc tgagatgatg gcatgcttgg gatgtgcatg gatcatggta 1311
 gtgcagcaaa ctatattcac ctagggctgt tggtaggatac aggtgaggcc ttgcacattg 1371
 15 catgatgtac tcgtcatggt gtgttggtga gaggatggat gtggatggat gtgtattctc 1431
 agacgtagac cttgactgga ggcttgatcg agagagtggg ccgtattctt tgagagggga 1491
 20 ggctcgtgcc agaaatggtg agtggatgac tgtgacgctg tacattgcag gcaggtgaga 1551
 tgcactgtct cgattgtaaa atacattcag atgcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaa 1608

25 <210> 52

<211> 322

<212> PRT

30

<213> Haematococcus pluvialis

35 <400> 52

Thr	Phe	His	Lys	Pro	Val	Ser	Gly	Ala	Ser	Ala	Leu	Pro	His	Ile	Gly
1				5				10						15	

40

Pro	Pro	Pro	His	Leu	His	Arg	Ser	Phe	Ala	Ala	Thr	Thr	Met	Leu	Ser
			20					25					30		

45

Lys	Leu	Gln	Ser	Ile	Ser	Val	Lys	Ala	Arg	Arg	Val	Glu	Leu	Ala	Arg
		35					40					45			

50

Asp	Ile	Thr	Arg	Pro	Lys	Val	Cys	Leu	His	Ala	Gln	Arg	Cys	Ser	Leu
	50					55					60				

5 Val Arg Leu Arg Val Ala Ala Pro Gln Thr Glu Glu Ala Leu Gly Thr
 65 70 75 80

Val Gln Ala Ala Gly Ala Gly Asp Glu His Ser Ala Asp Val Ala Leu
 85 90 95

10 Gln Gln Leu Asp Arg Ala Ile Ala Glu Arg Arg Ala Arg Arg Lys Arg
 100 105 110

15 Glu Gln Leu Ser Tyr Gln Ala Ala Ala Ile Ala Ala Ser Ile Gly Val
 115 120 125

20 Ser Gly Ile Ala Ile Phe Ala Thr Tyr Leu Arg Phe Ala Met His Met
 130 135 140

25 Thr Val Gly Gly Ala Val Pro Trp Gly Glu Val Ala Gly Thr Leu Leu
 145 150 155 160

Leu Val Val Gly Gly Ala Leu Gly Met Glu Met Tyr Ala Arg Tyr Ala
 165 170 175

30 His Lys Ala Ile Trp His Glu Ser Pro Leu Gly Trp Leu Leu His Lys
 180 185 190

35 Ser His His Thr Pro Arg Thr Gly Pro Phe Glu Ala Asn Asp Leu Phe
 195 200 205

40 Ala Ile Ile Asn Gly Leu Pro Ala Met Leu Leu Cys Thr Phe Gly Phe
 210 215 220

45 Trp Leu Pro Asn Val Leu Gly Ala Ala Cys Phe Gly Ala Gly Leu Gly
 225 230 235 240

Ile Thr Leu Tyr Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu Val
 245 250 255

50

91

His Arg Arg Phe Pro Thr Gly Pro Ile Ala Gly Leu Pro Tyr Met Lys
 260 265 270

5 Arg Leu Thr Val Ala His Gln Leu His His Ser Gly Lys Tyr Gly Gly
 275 280 285

10 Ala Pro Trp Gly Met Phe Leu Gly Pro Gln Glu Leu Gln His Ile Pro
 290 295 300

15 Gly Ala Ala Glu Glu Val Glu Arg Leu Val Leu Glu Leu Asp Trp Ser
 305 310 315 320

Lys Arg

20
 <210> 53
 <211> 1503

25
 <212> DNA
 <213> Tomato

30
 <220>
 <221> CDS

35
 <222> (1) .. (1503)
 <223>

40
 <400> 53
 atg gat act ttg ttg aaa acc cca aat aac ctt gaa ttt ctg aac cca 48
 Met Asp Thr Leu Leu Lys Thr Pro Asn Asn Leu Glu Phe Leu Asn Pro
 1 5 10 15
 45
 cat cat ggt ttt gct gtt aaa gct agt acc ttt aga tct gag aag cat 96
 His His Gly Phe Ala Val Lys Ala Ser Thr Phe Arg Ser Glu Lys His
 20 25 30
 50 cat aat ttt ggt tct agg aag ttt tgt gaa act ttg ggt aga agt gtt 144

92

	His	Asn	Phe	Gly	Ser	Arg	Lys	Phe	Cys	Glu	Thr	Leu	Gly	Arg	Ser	Val	
	35				40				45								
	tgt	ggt	aag	ggt	agt	agt	agt	gct	ctt	tta	gag	ctt	gta	cct	gag	acc	192
5	Cys	Val	Lys	Gly	Ser	Ser	Ser	Ala	Leu	Leu	Glu	Leu	Val	Pro	Glu	Thr	
	50				55				60								
	aaa	aag	gag	aat	ctt	gat	ttt	gag	ctt	cct	atg	tat	gac	cct	tca	aaa	240
10	Lys	Lys	Glu	Asn	Leu	Asp	Phe	Glu	Leu	Pro	Met	Tyr	Asp	Pro	Ser	Lys	
	65				70				75				80				
	ggg	gtt	gtt	gtg	gat	ctt	gct	gtg	gtt	ggg	ggg	ggc	cct	gca	gga	ctt	288
15	Gly	Val	Val	Val	Asp	Leu	Ala	Val	Val	Gly	Gly	Gly	Pro	Ala	Gly	Leu	
	85				90				95								
	gct	gtt	gca	cag	caa	gtt	tct	gaa	gca	gga	ctc	tct	gtt	tgt	tca	att	336
20	Ala	Val	Ala	Gln	Gln	Val	Ser	Glu	Ala	Gly	Leu	Ser	Val	Cys	Ser	Ile	
	100				105				110								
	gat	ccg	aat	cct	aaa	ttg	ata	tgg	cct	aat	aac	tat	ggg	gtt	tgg	gtg	384
25	Asp	Pro	Asn	Pro	Lys	Leu	Ile	Trp	Pro	Asn	Asn	Tyr	Gly	Val	Trp	Val	
	115				120				125								
	gat	gaa	ttt	gag	gct	atg	gac	ttg	tta	gat	tgt	cta	gat	gct	acc	tgg	432
30	Asp	Glu	Phe	Glu	Ala	Met	Asp	Leu	Leu	Asp	Cys	Leu	Asp	Ala	Thr	Trp	
	130				135				140								
	tct	ggg	gca	gca	gtg	tac	att	gat	gat	aat	acg	gct	aaa	gat	ctt	cat	480
35	Ser	Gly	Ala	Ala	Val	Tyr	Ile	Asp	Asp	Asn	Thr	Ala	Lys	Asp	Leu	His	
	145				150				155				160				
	aga	cct	tat	gga	agg	gtt	aac	cgg	aaa	cag	ctg	aaa	tcg	aaa	atg	atg	528
40	Arg	Pro	Tyr	Gly	Arg	Val	Asn	Arg	Lys	Gln	Leu	Lys	Ser	Lys	Met	Met	
	165				170				175								
	cag	aaa	tgt	ata	atg	aat	ggg	gtt	aaa	ttc	cac	caa	gcc	aaa	gtt	ata	576
45	Gln	Lys	Cys	Ile	Met	Asn	Gly	Val	Lys	Phe	His	Gln	Ala	Lys	Val	Ile	
	180				185				190								
	aag	gtg	att	cat	gag	gaa	tcg	aaa	tcc	atg	ttg	ata	tgc	aat	gat	ggg	624
50	Lys	Val	Ile	His	Glu	Glu	Ser	Lys	Ser	Met	Leu	Ile	Cys	Asn	Asp	Gly	
	195				200				205								
	att	act	att	cag	gca	acg	gtg	gtg	ctc	gat	gca	act	ggc	ttc	tct	aga	672
55	Ile	Thr	Ile	Gln	Ala	Thr	Val	Val	Leu	Asp	Ala	Thr	Gly	Phe	Ser	Arg	
	210				215				220								
	tct	ctt	gtt	cag	tat	gat	aag	cct	tat	aac	ccc	ggg	tat	caa	gtt	gct	720
60	Ser	Leu	Val	Gln	Tyr	Asp	Lys	Pro	Tyr	Asn	Pro	Gly	Tyr	Gln	Val	Ala	
	225				230				235				240				

	tat ggc att ttg gct gaa gtg gaa gag cac ccc ttt gat gta aac aag Tyr Gly Ile Leu Ala Glu Val Glu Glu His Pro Phe Asp Val Asn Lys 245 250 255	768
5	atg gtt ttc atg gat tgg cga gat tct cat ttg aag aac aat act gat Met Val Phe Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Lys Asn Asn Thr Asp 260 265 270	816
10	ctc aag gag aga aat agt aga ata cca act ttt ctt tat gca atg cca Leu Lys Glu Arg Asn Ser Arg Ile Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro 275 280 285	864
15	ttt tca tcc aac agg ata ttt ctt gaa gaa aca tca ctc gta gct cgt Phe Ser Ser Asn Arg Ile Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ala Arg 290 295 300	912
20	cct ggc ttg cgt ata gat gat att caa gaa cga atg gtg gct cgt tta Pro Gly Leu Arg Ile Asp Asp Ile Gln Glu Arg Met Val Ala Arg Leu 305 310 315 320	960
25	aac cat ttg ggg ata aaa gtg aag agc att gaa gaa gat gaa cat tgt Asn His Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Ile Glu Glu Asp Glu His Cys 325 330 335	1008
30	cta ata cca atg ggt ggt cca ctt cca gta tta cct cag aga gtc gtt Leu Ile Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Val Leu Pro Gln Arg Val Val 340 345 350	1056
35	gga atc ggt ggt aca gct ggc atg gtt cat cca tcc acc ggt tat atg Gly Ile Gly Gly Thr Ala Gly Met Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met 355 360 365	1104
40	gtg gca agg aca cta gct gcg gct cct gtt gtt gcc aat gcc ata att Val Ala Arg Thr Leu Ala Ala Ala Pro Val Val Ala Asn Ala Ile Ile 370 375 380	1152
45	caa tac ctc ggt tct gaa aga agt cat tcg ggt aat gaa tta tcc aca Gln Tyr Leu Gly Ser Glu Arg Ser His Ser Gly Asn Glu Leu Ser Thr 385 390 395 400	1200
50	gct gtt tgg aaa gat ttg tgg cct ata gag agg aga cgt caa aga gag Ala Val Trp Lys Asp Leu Trp Pro Ile Glu Arg Arg Arg Gln Arg Glu 405 410 415	1248
55	ttc ttc tgc ttc ggt atg gat att ctt ctg aag ctt gat tta cct gct Phe Phe Cys Phe Gly Met Asp Ile Leu Leu Lys Leu Asp Leu Pro Ala 420 425 430	1296
60	aca aga agg ttc ttt gat gca ttc ttt gac tta gaa cct cgt tat tgg	1344

Thr Arg Arg Phe Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Glu Pro Arg Tyr Trp
 435 440 445

5 cat ggc ttc tta tgc tct cga ttg ttt cta cct gaa ctg ata gtt ttt 1392
 His Gly Phe Leu Ser Ser Arg Leu Phe Leu Pro Glu Leu Ile Val Phe
 450 455 460

10 ggg ctg tct cta ttc tct cat gct tca aat act tct aga ttt gag ata 1440
 Gly Leu Ser Leu Phe Ser His Ala Ser Asn Thr Ser Arg Phe Glu Ile
 465 470 475 480

15 atg aca aag gga act gtt cca tta gta aat atg atc aac aat ttg tta 1488
 Met Thr Lys Gly Thr Val Pro Leu Val Asn Met Ile Asn Asn Leu Leu
 485 490 495
 cag gat aaa gaa tga 1503
 Gln Asp Lys Glu
 500

20 <210> 54

<211> 500

25 <212> PRT

<213> Tomate

30 <400> 54

35 Met Asp Thr Leu Leu Lys Thr Pro Asn Asn Leu Glu Phe Leu Asn Pro
 1 5 10 15

His His Gly Phe Ala Val Lys Ala Ser Thr Phe Arg Ser Glu Lys His
 20 25 30

40 His Asn Phe Gly Ser Arg Lys Phe Cys Glu Thr Leu Gly Arg Ser Val
 35 40 45

45 Cys Val Lys Gly Ser Ser Ser Ala Leu Leu Glu Leu Val Pro Glu Thr
 50 55 60

50 Lys Lys Glu Asn Leu Asp Phe Glu Leu Pro Met Tyr Asp Pro Ser Lys
 65 70 75 80

Gly Val Val Val Asp Leu Ala Val Val Gly Gly Gly Pro Ala Gly Leu
85 90 95

5

Ala Val Ala Gln Gln Val Ser Glu Ala Gly Leu Ser Val Cys Ser Ile
100 105 110

10

Asp Pro Asn Pro Lys Leu Ile Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val
115 120 125

15

Asp Glu Phe Glu Ala Met Asp Leu Leu Asp Cys Leu Asp Ala Thr Trp
130 135 140

20

Ser Gly Ala Ala Val Tyr Ile Asp Asp Asn Thr Ala Lys Asp Leu His
145 150 155 160

Arg Pro Tyr Gly Arg Val Asn Arg Lys Gln Leu Lys Ser Lys Met Met
165 170 175

25

Gln Lys Cys Ile Met Asn Gly Val Lys Phe His Gln Ala Lys Val Ile
180 185 190

30

Lys Val Ile His Glu Glu Ser Lys Ser Met Leu Ile Cys Asn Asp Gly
195 200 205

35

Ile Thr Ile Gln Ala Thr Val Val Leu Asp Ala Thr Gly Phe Ser Arg
210 215 220

40

Ser Leu Val Gln Tyr Asp Lys Pro Tyr Asn Pro Gly Tyr Gln Val Ala
225 230 235 240

Tyr Gly Ile Leu Ala Glu Val Glu Glu His Pro Phe Asp Val Asn Lys
245 250 255

45

Met Val Phe Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Lys Asn Asn Thr Asp
260 265 270

50

Leu Lys Glu Arg Asn Ser Arg Ile Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro
275 280 285

5 Phe Ser Ser Asn Arg Ile Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ala Arg
290 295 300

10 Pro Gly Leu Arg Ile Asp Asp Ile Gln Glu Arg Met Val Ala Arg Leu
305 310 315 320

15 Asn His Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Ile Glu Glu Asp Glu His Cys
325 330 335

Leu Ile Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Val Leu Pro Gln Arg Val Val
340 345 350

20 Gly Ile Gly Gly Thr Ala Gly Met Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met
355 360 365

25 Val Ala Arg Thr Leu Ala Ala Ala Pro Val Val Ala Asn Ala Ile Ile
370 375 380

30 Gln Tyr Leu Gly Ser Glu Arg Ser His Ser Gly Asn Glu Leu Ser Thr
385 390 395 400

35 Ala Val Trp Lys Asp Leu Trp Pro Ile Glu Arg Arg Arg Gln Arg Glu
405 410 415

Phe Phe Cys Phe Gly Met Asp Ile Leu Leu Lys Leu Asp Leu Pro Ala
420 425 430

40 Thr Arg Arg Phe Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Glu Pro Arg Tyr Trp
435 440 445

45 His Gly Phe Leu Ser Ser Arg Leu Phe Leu Pro Glu Leu Ile Val Phe
450 455 460

50 Gly Leu Ser Leu Phe Ser His Ala Ser Asn Thr Ser Arg Phe Glu Ile
465 470 475 480

Met Thr Lys Gly Thr Val Pro Leu Val Asn Met Ile Asn Asn Leu Leu
 485 490 495

5

Gln Asp Lys Glu
 500

10

<210> 55

<211> 1125

15

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

20

<220>

<221> CDS

25

<222> (20) .. (946)

<223>

30

<400> 55

ttggtcatct ccacaatca atg gct gcc gcc gcc aga atc tcc gcc tcc tct 52
 Met Ala Ala Ala Ala Arg Ile Ser Ala Ser Ser
 1 5 10

35

acc tca cga act ttt tat ttc cgt cat tca ccg ttt ctt ggc cca aaa 100
 Thr Ser Arg Thr Phe Tyr Phe Arg His Ser Pro Phe Leu Gly Pro Lys
 15 20 25

40

cct act tcg aca acc tca cat gtt tct cca atc tct cct ttt tct ctt 148
 Pro Thr Ser Thr Thr Ser His Val Ser Pro Ile Ser Pro Phe Ser Leu
 30 35 40

45

aat cta ggc cca att ttg agg tct aga aga aaa ccc agt ttc act gtt 196
 Asn Leu Gly Pro Ile Leu Arg Ser Arg Arg Lys Pro Ser Phe Thr Val
 45 50 55

50

tgc ttt gtt ctc gag gat gag aag ctg aaa cct caa ttt gac gat gag 244
 Cys Phe Val Leu Glu Asp Glu Lys Leu Lys Pro Gln Phe Asp Asp Glu
 60 65 70 75

	gct gag gat ttt gaa aag aag att gag gaa cag atc tta gct act cgc	292
	Ala Glu Asp Phe Glu Lys Lys Ile Glu Glu Gln Ile Leu Ala Thr Arg	
	80 85 90	
5	ttg gcg gag aaa ctg gct agg aag aaa tcg gag agg ttt act tat ctt	340
	Leu Ala Glu Lys Leu Ala Arg Lys Lys Ser Glu Arg Phe Thr Tyr Leu	
	95 100 105	
10	gtg gct gct ata atg tct agt ttt ggg att act tct atg gct gtt atg	388
	Val Ala Ala Ile Met Ser Ser Phe Gly Ile Thr Ser Met Ala Val Met	
	110 115 120	
15	gct gtt tat tac aga ttt tcg tgg caa atg gag gga gga gaa gtt cct	436
	Ala Val Tyr Tyr Arg Phe Ser Trp Gln Met Glu Gly Gly Glu Val Pro	
	125 130 135	
20	gta acc gaa atg ttg ggt aca ttt gct ctc tct gtt ggt gct gct gta	484
	Val Thr Glu Met Leu Gly Thr Phe Ala Leu Ser Val Gly Ala Ala Val	
	140 145 150 155	
25	gga atg gag ttt tgg gcg aga tgg gca cac aaa gca ctg tgg cat gct	532
	Gly Met Glu Phe Trp Ala Arg Trp Ala His Lys Ala Leu Trp His Ala	
	160 165 170	
30	tca cta tgg cac atg cat gag tca cac cac aaa cca aga gaa gga cct	580
	Ser Leu Trp His Met His Glu Ser His His Lys Pro Arg Glu Gly Pro	
	175 180 185	
35	ttt gag ctg aac gac gtt ttc gcc ata aca aac gct gtt cca gca ata	628
	Phe Glu Leu Asn Asp Val Phe Ala Ile Thr Asn Ala Val Pro Ala Ile	
	190 195 200	
40	gcc ctc ctc aac tat ggt ttc ttc cat aaa ggc ctc att gcc gga cta	676
	Ala Leu Leu Asn Tyr Gly Phe Phe His Lys Gly Leu Ile Ala Gly Leu	
	205 210 215	
45	tgc ttc ggt gct ggg cta ggg atc aca gta ttt gga atg gca tac atg	724
	Cys Phe Gly Ala Gly Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met	
	220 225 230 235	
50	ttt gtt cac gat ggt ttg gtt cac aag aga ttc cca gtt gga cct gta	772
	Phe Val His Asp Gly Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Val	
	240 245 250	
55	gcc aat gta cct tat ctt agg aag gtg gct gct gct cat tcg ctt cat	820
	Ala Asn Val Pro Tyr Leu Arg Lys Val Ala Ala Ala His Ser Leu His	
	255 260 265	
60	cac tca gag aag ttc aat ggt gtc cca tat ggc ttg ttc ttc gga cct	868

99

His Ser Glu Lys Phe Asn Gly Val Pro Tyr Gly Leu Phe Phe Gly Pro
 270 275 280

5 aag gaa ctg gaa gaa gta gga ggg acg gaa gag ttg gaa aag gaa gtg 916
 Lys Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Thr Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val
 285 290 295

10 ata cga agg acg aga ctt tcg aaa gga tca tgaacgattg ttcataaaca 966
 Ile Arg Arg Thr Arg Leu Ser Lys Gly Ser
 300 305

tagaatgtca ttttacactt cttatcaatg aggaagggtg atttttgatg tatttgatag 1026

15 tagagaaaaa tgtagctctc ttgatgaaat gaatttgtat ttatgtaggc tcttcttatt 1086
 cagtaagatt ttttcttttt ttgatctcg tgccgaatt 1125

<210> 56

20

<211> 309

<212> PRT

25 <213> Lycopersicon esculentum

<400> 56

30

Met Ala Ala Ala Ala Arg Ile Ser Ala Ser Ser Thr Ser Arg Thr Phe
 1 5 10 15

35 Tyr Phe Arg His Ser Pro Phe Leu Gly Pro Lys Pro Thr Ser Thr Thr
 20 25 30

40 Ser His Val Ser Pro Ile Ser Pro Phe Ser Leu Asn Leu Gly Pro Ile
 35 40 45

45 Leu Arg Ser Arg Arg Lys Pro Ser Phe Thr Val Cys Phe Val Leu Glu
 50 55 60

Asp Glu Lys Leu Lys Pro Gln Phe Asp Asp Glu Ala Glu Asp Phe Glu
 65 70 75 80

50

100

Lys Lys Ile Glu Glu Gln Ile Leu Ala Thr Arg Leu Ala Glu Lys Leu
 85 90 95

5 Ala Arg Lys Lys Ser Glu Arg Phe Thr Tyr Leu Val Ala Ala Ile Met
 100 105 110

10 Ser Ser Phe Gly Ile Thr Ser Met Ala Val Met Ala Val Tyr Tyr Arg
 115 120 125

15 Phe Ser Trp Gln Met Glu Gly Gly Glu Val Pro Val Thr Glu Met Leu
 130 135 140

Gly Thr Phe Ala Leu Ser Val Gly Ala Ala Val Gly Met Glu Phe Trp
 145 150 155 160

20 Ala Arg Trp Ala His Lys Ala Leu Trp His Ala Ser Leu Trp His Met
 165 170 175

25 His Glu Ser His His Lys Pro Arg Glu Gly Pro Phe Glu Leu Asn Asp
 180 185 190

30 Val Phe Ala Ile Thr Asn Ala Val Pro Ala Ile Ala Leu Leu Asn Tyr
 195 200 205

35 Gly Phe Phe His Lys Gly Leu Ile Ala Gly Leu Cys Phe Gly Ala Gly
 210 215 220

Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly
 225 230 235 240

40 Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Val Ala Asn Val Pro Tyr
 245 250 255

45 Leu Arg Lys Val Ala Ala Ala His Ser Leu His His Ser Glu Lys Phe
 260 265 270

50 Asn Gly Val Pro Tyr Gly Leu Phe Phe Gly Pro Lys Glu Leu Glu Glu
 275 280 285

Val Gly Gly Thr Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Ile Arg Arg Thr Arg
 290 295 300

5

Leu Ser Lys Gly Ser
 305

10

<210> 57

<211> 1666

15

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

20

<220>

<221> CDS

25

<222> (1) .. (1494)

<223>

30

<400> 57

atg gaa gct ctt ctc aag cct ttt cca tct ctt tta ctt tcc tct cct 48

Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser Pro

1 5 10 15

35

aca ccc cat agg tct att ttc caa caa aat ccc tct ttt cta agt ccc 96

Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro

20 25 30

40

acc acc aaa aaa aaa tca aga aaa tgt ctt ctt aga aac aaa agt agt 144

Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser

35 40 45

45

aaa ctt ttt tgt agc ttt ctt gat tta gca ccc aca tca aag cca gag 192

Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu

50 55 60

tct tta gat gtt aac atc tca tgg gtt gat cct aat tcg aat cgg gct 240

Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala

50 65 70 75 80

	caa ttc gac gtg atc att atc gga gct ggc cct gct ggg ctc agg cta	288
	Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Leu	
	85 90 95	
5	gct gaa caa gtt tct aaa tat ggt att aag gta tgt tgt gtt gac cct	336
	Ala Glu Gln Val Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Val Cys Cys Val Asp Pro	
	100 105 110	
10	tca cca ctc tcc atg tgg cca aat aat tat ggt gtt tgg gtt gat gag	384
	Ser Pro Leu Ser Met Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val Asp Glu	
	115 120 125	
15	ttt gag aat tta gga ctg gaa aat tgt tta gat cat aaa tgg cct atg	432
	Phe Glu Asn Leu Gly Leu Glu Asn Cys Leu Asp His Lys Trp Pro Met	
	130 135 140	
20	act tgt gtg cat ata aat gat aac aaa act aag tat ttg gga aga cca	480
	Thr Cys Val His Ile Asn Asp Asn Lys Thr Lys Tyr Leu Gly Arg Pro	
	145 150 155 160	
	tat ggt aga gtt agt aga aag aag ctg aag ttg aaa ttg ttg aat agt	528
	Tyr Gly Arg Val Ser Arg Lys Lys Leu Lys Leu Lys Leu Leu Asn Ser	
	165 170 175	
25	tgt gtt gag aac aga gtg aag ttt tat aaa gct aag gtt tgg aaa gtg	576
	Cys Val Glu Asn Arg Val Lys Phe Tyr Lys Ala Lys Val Trp Lys Val	
	180 185 190	
30	gaa cat gaa gaa ttt gag tct tca att gtt tgt gat gat ggt aag aag	624
	Glu His Glu Glu Phe Glu Ser Ser Ile Val Cys Asp Asp Gly Lys Lys	
	195 200 205	
35	ata aga ggt agt ttg gtt gtg gat gca agt ggt ttt gct agt gat ttt	672
	Ile Arg Gly Ser Leu Val Val Asp Ala Ser Gly Phe Ala Ser Asp Phe	
	210 215 220	
40	ata gag tat gac agg cca aga aac cat ggt tat caa att gct cat ggg	720
	Ile Glu Tyr Asp Arg Pro Arg Asn His Gly Tyr Gln Ile Ala His Gly	
	225 230 235 240	
45	gtt tta gta gaa gtt gat aat cat cca ttt gat ttg gat aaa atg gtg	768
	Val Leu Val Glu Val Asp Asn His Pro Phe Asp Leu Asp Lys Met Val	
	245 250 255	
	ctt atg gat tgg agg gat tct cat ttg ggt aat gag cca tat tta agg	816
	Leu Met Asp Trp Arg Asp Ser His Leu Gly Asn Glu Pro Tyr Leu Arg	
	260 265 270	
50	gtg aat aat gct aaa gaa cca aca ttc ttg tat gca atg cca ttt gat	864

103

	Val Asn Asn Ala Lys Glu Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro Phe Asp	
	275 280 285	
5	aga gat ttg gtt ttc ttg gaa gag act tct ttg gtg agt cgt cct gtt Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val	912
	290 295 300	
10	tta tcg tat atg gaa gta aaa aga agg atg gtg gca aga tta agg cat Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His	960
	305 310 315 320	
15	ttg ggg atc aaa gtg aaa agt gtt att gag gaa gag aaa tgt gtg atc Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Glu Lys Cys Val Ile	1008
	325 330 335	
20	cct atg gga gga cca ctt ccg cgg att cct caa aat gtt atg gct att Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile	1056
	340 345 350	
25	agg agc atg gct tta gca cca gta cta gct gaa gcc atc gtc gag ggg Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly	1152
	370 375 380	
30	ctt ggc tca aca aga atg ata aga ggg tct caa ctt tac cat aga gtt Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val	1200
	385 390 395 400	
35	tgg aat ggt ttg tgg cct ttg gat aga aga tgt gtt aga gaa tgt tat Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr	1248
	405 410 415	
40	tca ttt ggg atg gag aca ttg ttg aag ctt gat ttg aaa ggg act agg Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg	1296
	420 425 430	
45	aga ttg ttt gac gct ttc ttt gat ctt gat cct aaa tac tgg caa ggg Arg Leu Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly	1344
	435 440 445	
50	ttc ctt tct tca aga ttg tct gtc aaa gaa ctt ggt tta ctc agc ttg Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu	1392
	450 455 460	
50	tgt ctt ttc gga cat ggc tca aac atg act agg ttg gat att gtt aca Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr	1440
	465 470 475 480	

aaa tgt cct ctt cct ttg gtt aga ctg att ggc aat cta gca ata gag 1488
 Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu

485

490

495

5

agc ctt tgaatgtgaa aagtttgaat cattttcttc attttaattt ctttgattat 1544
 Ser Leu

10 tttcatattt tctcaattgc aaaagtgaga taagagctac atactgtcaa caaataaact 1604

actattggaa agttaaaata tgtgtttgtt gtatgttatt ctaatggaat ggattttgta 1664

aa

1666

15

<210> 58

<211> 498

20

<212> PRT

<213> Lycopersicon esculentum

25

<400> 58

30

Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser Pro
 1 5 10 15

Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro
 20 25 30

35

Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser
 35 40 45

40

Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu
 50 55 60

45

Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala
 65 70 75 80

50

Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg Leu
 85 90 95

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Val Asn Asn Ala Lys Glu Pro Thr Phe Leu Tyr Ala Met Pro Phe Asp
275 280 285

106

Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val
290 295 300

5 Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His
305 310 315 320

10 Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Glu Lys Cys Val Ile
325 330 335

15 Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile
340 345 350

Gly Gly Asn Ser Gly Ile Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met Val Ala
355 360 365

20 Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly
370 375 380

25 Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val
385 390 395 400

30 Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr
405 410 415

35 Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg
420 425 430

Arg Leu Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly
435 440 445

40 Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu
450 455 460

45 Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr
465 470 475 480

50 Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu
485 490 495

Ser Leu

5

<210> 59

<211> 37

10

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

15

<220>

<221> Primer

20

<222> (1)..(37)

<223>

25

<400> 59

gcgcatgcat ctagaaatga tccagttaga acaacca

37

30

<210> 60

<211> 37

35

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

40

<220>

<221> Primer

45

<222> (1)..(37)

<223>

50

<400> 60
gcgc atg ctc tagactat ttt tgctttgtaa atttctg

37

5 <210> 61

<211> 792

<212> DNA

10

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

15 <220>

<221> CDS

<222> (5)..(775)

20

<223>

25 <400> 61

gcgc atg cat cta gaa atg atc cag tta gaa caa cca ctc agt cat caa
Met His Leu Glu Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln
1 5 10 15

49

30 gca aaa ctg act cca gta ctg aga agt aaa tct cag ttt aag ggg ctt
Ala Lys Leu Thr Pro Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu
20 25 30

97

35 ttc att gct att gtc att gtt agc gca tgg gtc att agc ctg agt tta
Phe Ile Ala Ile Val Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu
35 40 45

145

40 tta ctt tcc ctt gac atc tca aag cta aaa ttt tgg atg tta ttg cct
Leu Leu Ser Leu Asp Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro
50 55 60

193

ggt ata cta tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta ttt att aca tct
Val Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser
65 70 75

241

45 cat gat gcc atg cat ggc gta gta ttt ccc caa aac acc aag att aat
His Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn
80 85 90 95

289

50 cat ttg att gga aca ttg acc cta tcc ctt tat ggt ctt tta cca tat

337

109

	His Leu Ile Gly Thr Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr	
	100 105 110	
5	caa aaa cta ttg aaa aaa cat tgg tta cac cac cac aat cca gca agc Gln Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser	385
	115 120 125	
10	tca ata gac ccg gat ttt cac aat ggt aaa cac caa agt ttc ttt gct Ser Ile Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala	433
	130 135 140	
15	tgg tat ttt cat ttt atg aaa ggt tac tgg agt tgg ggg caa ata att Trp Tyr Phe His Phe Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile	481
	145 150 155	
20	gcg ttg act att att tat aac ttt gct aaa tac ata ctc cat atc cca Ala Leu Thr Ile Ile Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro	529
	160 165 170 175	
25	agt gat aat cta act tac ttt tgg gtg cta ccc tcg ctt tta agt tca Ser Asp Asn Leu Thr Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser	577
	180 185 190	
30	tta caa tta ttc tat ttt ggt act ttt tta ccc cat agt gaa cca ata Leu Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile	625
	195 200 205	
35	ggg ggt tat gtt cag cct cat tgt gcc caa aca att agc cgt cct att Gly Gly Tyr Val Gln Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile	673
	210 215 220	
40	tgg tgg tca ttt atc acg tgc tat cat ttt ggc tac cac gag gaa cat Trp Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His	721
	225 230 235	
45	cac gaa tat cct cat att tct tgg tgg cag tta cca gaa att tac aaa His Glu Tyr Pro His Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys	769
	240 245 250 255	
50	gca aaa tagtctagag catgcg Ala Lys	792
45	<210> 62	
	<211> 257	
	<212> PRT	

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

5 <400> 62

Met His Leu Glu Met Ile Gln Leu Glu Gln Pro Leu Ser His Gln Ala
 1 5 10 15

10

Lys Leu Thr Pro Val Leu Arg Ser Lys Ser Gln Phe Lys Gly Leu Phe
 20 25 30

15 Ile Ala Ile Val Ile Val Ser Ala Trp Val Ile Ser Leu Ser Leu Leu
 35 40 45

20 Leu Ser Leu Asp Ile Ser Lys Leu Lys Phe Trp Met Leu Leu Pro Val
 50 55 60

25 Ile Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ser His
 65 70 75 80

Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Gln Asn Thr Lys Ile Asn His
 85 90 95

30 Leu Ile Gly Thr Leu Thr Leu Ser Leu Tyr Gly Leu Leu Pro Tyr Gln
 100 105 110

35 Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn Pro Ala Ser Ser
 115 120 125

40 Ile Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys His Gln Ser Phe Phe Ala Trp
 130 135 140

45 Tyr Phe His Phe Met Lys Gly Tyr Trp Ser Trp Gly Gln Ile Ile Ala
 145 150 155 160

Leu Thr Ile Ile Tyr Asn Phe Ala Lys Tyr Ile Leu His Ile Pro Ser
 165 170 175

50

111

Asp Asn Leu Thr Tyr Phe Trp Val Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ser Leu
 180 185 190

5 Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser Glu Pro Ile Gly
 195 200 205

10 Gly Tyr Val Gln Pro His Cys Ala Gln Thr Ile Ser Arg Pro Ile Trp
 210 215 220

15 Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His His
 225 230 235 240

Glu Tyr Pro His Ile Ser Trp Trp Gln Leu Pro Glu Ile Tyr Lys Ala
 245 250 255

20 Lys

25 <210> 63

<211> 26

<212> DNA

30

<213> Künstliche Sequenz

35 <220>

<221> Primer

<222> (1) .. (26)

40

<223>

45 <400> 63
 gtcgaccctg ctttaatgag atatgc

26

<210> 64

50

<211> 27

<212> DNA

5 <213> Künstliche Sequenz

<220>

10

<221> Primer

<222> (1)..(27)

15 <223>

<400> 64

20 ctcgagcttg gacaatcagt aaattga

27

<210> 65

25 <211> 210

<212> DNA

<213> Agrobacterium tumefaciens

30

<220>

35 <221> Terminator

<222> (1)..(210)

<223>

40

<400> 65

gtcgaccctg ctttaatgag atatgcgaga cgcctatgat cgcgatgatat ttgctttcaa 60

45 ttctgttgtg cacgttgtaa aaaacctgag catgtgtagc tcagatcctt accgccggtt 120

tcggttcatt ctaatgaata tatcaccogt tactatcgta tttttatgaa taatattctc 180

50 cgttcaattt actgattgtc caagctcgag 210

<210> 66

5 <211> 35

<212> DNA

10 <213> Künstliche Sequenz

<220>

15 <221> Primer

<222> (1)..(35)

20 <223>

<400> 66
gcgcgatgcat ctagaaatgg ttcagtgtca accat

35

25

<210> 67

<211> 35

30

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

35

<220>

<221> Primer

40

<222> (1)..(35)

<223>

45

<400> 67
gcgcgatgctc tagaccttat aaagatattt tgtga

35

50

<210> 68

<211> 809

5 <212> DNA

<213> Nostoc PCC 7120

10

<220>

<221> CDS

15 <222> (5) .. (790)

<223>

20

<400> 68

gcgc atg cat cta gaa atg gtt cag tgt caa cca tca tct ctg cat tca 49
 Met His Leu Glu Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser
 1 5 10 15

25

gaa aaa ctg gtg tta ttg tca tgc aca atc aga gat gat aaa aat att 97
 Glu Lys Leu Val Leu Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile
 20 25 30

30

aat aag ggt ata ttt att gcc tgc ttt atc tta ttt tta tgg gca att 145
 Asn Lys Gly Ile Phe Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile
 35 40 45

35

agt tta atc tta tta ctc tca ata gat aca tcc ata att cat aag agc 193
 Ser Leu Ile Leu Leu Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser
 50 55 60

40

tta tta ggt ata gcc atg ctt tgg cag acc ttc tta tat aca ggt tta 241
 Leu Leu Gly Ile Ala Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu
 65 70 75

45

ttt att act gct cat gat gcc atg cac ggc gta gtt tat ccc aaa aat 289
 Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn
 80 85 90 95

ccc aga ata aat aat ttt ata ggt aag ctc act cta atc ttg tat gga 337
 Pro Arg Ile Asn Asn Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly
 100 105 110

50

cta ctc cct tat aaa gat tta ttg aaa aaa cat tgg tta cac cac gga 385

115

Leu Leu Pro Tyr Lys Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly
 115 120 125

5 cat cct ggt act gat tta gac cct gat tat tac aat ggt cat ccc caa 433
 His Pro Gly Thr Asp Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln
 130 135 140

10 aac ttc ttt ctt tgg tat cta cat ttt atg aag tct tat tgg cga tgg 481
 Asn Phe Phe Leu Trp Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp
 145 150 155

15 acg caa att ttc gga tta gtg atg att ttt cat gga ctt aaa aat ctg 529
 Thr Gln Ile Phe Gly Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu
 160 165 170 175

20 gtg cat ata cca gaa aat aat tta att ata ttt tgg atg ata cct tct 577
 Val His Ile Pro Glu Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser
 180 185 190

25 att tta agt tca gta caa cta ttt tat ttt ggt aca ttt ttg cct cat 625
 Ile Leu Ser Ser Val Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His
 195 200 205

30 aaa aag cta gaa ggt ggt tat act aac ccc cat tgt gcg cgc agt atc 673
 Lys Lys Leu Glu Gly Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile
 210 215 220

35 cca tta cct ctt ttt tgg tct ttt gtt act tgt tat cac ttc ggc tac 721
 Pro Leu Pro Leu Phe Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr
 225 230 235

40 cac aag gaa cat cac gaa tac cct caa ctt cct tgg tgg aaa tta cct 769
 His Lys Glu His His Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro
 240 245 250 255

45 gaa gct cac aaa ata tct tta taaggtctag agcatgcgc 809
 Glu Ala His Lys Ile Ser Leu
 260

50 <210> 69
 <211> 262
 <212> PRT
 <213> Nostoc PCC 7120

<400> 69

Met His Leu Glu Met Val Gln Cys Gln Pro Ser Ser Leu His Ser Glu
 1 5 10 15
 5

Lys Leu Val Leu Leu Ser Ser Thr Ile Arg Asp Asp Lys Asn Ile Asn
 20 25 30

10 Lys Gly Ile Phe Ile Ala Cys Phe Ile Leu Phe Leu Trp Ala Ile Ser
 35 40 45

15 Leu Ile Leu Leu Leu Ser Ile Asp Thr Ser Ile Ile His Lys Ser Leu
 50 55 60

20 Leu Gly Ile Ala Met Leu Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe
 65 70 75 80

Ile Thr Ala His Asp Ala Met His Gly Val Val Tyr Pro Lys Asn Pro
 85 90 95
 25

Arg Ile Asn Asn Phe Ile Gly Lys Leu Thr Leu Ile Leu Tyr Gly Leu
 100 105 110

30 Leu Pro Tyr Lys Asp Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His Gly His
 115 120 125

35 Pro Gly Thr Asp Leu Asp Pro Asp Tyr Tyr Asn Gly His Pro Gln Asn
 130 135 140

40 Phe Phe Leu Trp Tyr Leu His Phe Met Lys Ser Tyr Trp Arg Trp Thr
 145 150 155 160

Gln Ile Phe Gly Leu Val Met Ile Phe His Gly Leu Lys Asn Leu Val
 165 170 175
 45

His Ile Pro Glu Asn Asn Leu Ile Ile Phe Trp Met Ile Pro Ser Ile
 180 185 190
 50

117

Leu Ser Ser Val Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Lys
 195 200 205

5 Lys Leu Glu Gly Gly Tyr Thr Asn Pro His Cys Ala Arg Ser Ile Pro
 210 215 220

10 Leu Pro Leu Phe Trp Ser Phe Val Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His
 225 230 235 240

15 Lys Glu His His Glu Tyr Pro Gln Leu Pro Trp Trp Lys Leu Pro Glu
 245 250 255

Ala His Lys Ile Ser Leu
 260

20 <210> 70

<211> 39

25 <212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

30 <220>

<221> Primer

35 <222> (1) .. (39)

<223>

40

<400> 70
 gcgcatgcat ctagaaatga atttttgtga taaaccagt

39

45 <210> 71

<211> 37

<212> DNA

50

<213> Künstliche Sequenz

5 <220>

<221> Primer

<222> (1)..(37)

10

<223>

15

<400> 71

gcgc atg ctc tagattacga attgggttact gaattgt

37

20

<210> 72

<211> 819

<212> DNA

25

<213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

30

<220>

<221> CDS

<222> (5)..(802)

35

<223>

40

<400> 72

gcgc atg cat cta gaa atg aat ttt tgt gat aaa cca gtt agc tat tat

49

Met His Leu Glu Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr

1

5

10

15

45

gtt gca ata gag caa tta agt gct aaa gaa gat act gtt tgg ggg ctg

97

Val Ala Ile Glu Gln Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu

20

25

30

50

gtg att gtc ata gta att att agt ctt tgg gta gct agt ttg gct ttt

145

Val Ile Val Ile Val Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe

35

40

45

	tta cta gct att aat tat gcc aaa gtc cca att tgg ttg ata cct att	193
	Leu Leu Ala Ile Asn Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile	
	50 55 60	
5	gca ata gtt tgg caa atg ttc ctt tat aca ggg cta ttt att act gca	241
	Ala Ile Val Trp Gln Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala	
	65 70 75	
10	cat gat gct atg cat ggg tca gtt tat cgt aaa aat ccc aaa att aat	289
	His Asp Ala Met His Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn	
	80 85 90 95	
15	aat ttt atc ggt tca cta gct gta gcg ctt tac gct gtg ttt cca tat	337
	Asn Phe Ile Gly Ser Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr	
	100 105 110	
20	caa cag atg tta aag aat cat tgc tta cat cat cgt cat cct gct agc	385
	Gln Gln Met Leu Lys Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser	
	115 120 125	
25	gaa gtt gac cca gat ttt cat gat ggt aag aga aca aac gct att ttc	433
	Glu Val Asp Pro Asp Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe	
	130 135 140	
	tgg tat ctc cat ttc atg ata gaa tac tcc agt tgg caa cag tta ata	481
	Trp Tyr Leu His Phe Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile	
	145 150 155	
30	gta cta act atc cta ttt aat tta gct aaa tac gtt ttg cac atc cat	529
	Val Leu Thr Ile Leu Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His	
	160 165 170 175	
35	caa ata aat ctc atc tta ttt tgg agt att cct cca att tta agt tcc	577
	Gln Ile Asn Leu Ile Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser	
	180 185 190	
40	att caa ctg ttt tat ttc gga aca ttt ttg cct cat cga gaa ccc aag	625
	Ile Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys	
	195 200 205	
45	aaa gga tat gtt tat ccc cat tgc agc caa aca ata aaa ttg cca act	673
	Lys Gly Tyr Val Tyr Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr	
	210 215 220	
	ttt ttg tca ttt atc gct tgc tac cac ttt ggt tat cat gaa gaa cat	721
	Phe Leu Ser Phe Ile Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu Glu His	
	225 230 235	
50	cat gag tat ccc cat gta cct tgg tgg caa ctt cca tct gta tat aag	769

120

His Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys
 240 245 250 255

5 cag aga gta ttc aac aat tca gta acc aat tcg taatctagag catgcgc 819
 Gln Arg Val Phe Asn Asn Ser Val Thr Asn Ser
 260 265

10 <210> 73
 <211> 266
 <212> PRT

15 <213> Nostoc punctiforme ATCC 29133

20 <400> 73
 Met His Leu Glu Met Asn Phe Cys Asp Lys Pro Val Ser Tyr Tyr Val
 1 5 10 15

25 Ala Ile Glu Gln Leu Ser Ala Lys Glu Asp Thr Val Trp Gly Leu Val
 20 25 30

30 Ile Val Ile Val Ile Ile Ser Leu Trp Val Ala Ser Leu Ala Phe Leu
 35 40 45

35 Leu Ala Ile Asn Tyr Ala Lys Val Pro Ile Trp Leu Ile Pro Ile Ala
 50 55 60

Ile Val Trp Gln Met Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe Ile Thr Ala His
 65 70 75 80

40 Asp Ala Met His Gly Ser Val Tyr Arg Lys Asn Pro Lys Ile Asn Asn
 85 90 95

45 Phe Ile Gly Ser Leu Ala Val Ala Leu Tyr Ala Val Phe Pro Tyr Gln
 100 105 110

50 Gln Met Leu Lys Asn His Cys Leu His His Arg His Pro Ala Ser Glu
 115 120 125

Val Asp Pro Asp Phe His Asp Gly Lys Arg Thr Asn Ala Ile Phe Trp
 130 135 140
 5
 Tyr Leu His Phe Met Ile Glu Tyr Ser Ser Trp Gln Gln Leu Ile Val
 145 150 155 160
 10
 Leu Thr Ile Leu Phe Asn Leu Ala Lys Tyr Val Leu His Ile His Gln
 165 170 175
 15
 Ile Asn Leu Ile Leu Phe Trp Ser Ile Pro Pro Ile Leu Ser Ser Ile
 180 185 190
 20
 Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Arg Glu Pro Lys Lys
 195 200 205
 Gly Tyr Val Tyr Pro His Cys Ser Gln Thr Ile Lys Leu Pro Thr Phe
 210 215 220
 25
 Leu Ser Phe Ile Ala Cys Tyr His Phe Gly Tyr His Glu, Glu His His
 225 230 235 240
 30
 Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Ser Val Tyr Lys Gln
 245 250 255
 35
 Arg Val Phe Asn Asn Ser Val Thr Asn Ser
 260 265
 40
 <210> 74
 <211> 33
 <212> DNA
 45
 <213> Künstliche Sequenz
 50
 <220>

<221> Primer

<222> (1)..(33)

5 <223>

<400> 74

10 gcgcgatgcat ctagaaatgg cgatcgccat tat

33

<210> 75

15 <211> 32

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

20

<220>

25 <221> Primer

<222> (1)..(32)

<223>

30

<400> 75

35 gcgcgatgctc tagatcacao atttgattta ga

32

<210> 76

<211> 720

40

<212> DNA

<213> Nodularia spumigena NSOR10

45

<220>

<221> CDS

50

<222> (5)..(703)

<223>

5

<400> 76

	gcgc atg cat cta gaa atg gcg atc gcc att att agt ata tgg gct atc	49
	Met His Leu Glu Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile	
10	1 5 10 15	
	agc cta ggt ttg tta ctt tat att gat ata tcc caa ttc aag ttt tgg	97
	Ser Leu Gly Leu Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp	
	20 25 30	
15	atg ttg tta ccg ctc ata ttt tgg caa aca ttt tta tat acg gga tta	145
	Met Leu Leu Pro Leu Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu	
	35 40 45	
20	ttt att aca gct cat gat gcc atg cat ggg gta gtt ttt ccc aaa aat	193
	Phe Ile Thr Ala His Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn	
	50 55 60	
	ccc aaa atc aac cat ttc att ggc tca ttg tgc ctg ttt ctt tat ggt	241
25	Pro Lys Ile Asn His Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly	
	65 70 75	
	ctt tta cct tat caa aaa ctt tta aaa aag cat tgg cta cat cac cat	289
	Leu Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His	
30	80 85 90 95	
	aat cca gcc agt gaa aca gat cca gat ttt cac aac ggg aag cag aaa	337
	Asn Pro Ala Ser Glu Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys	
	100 105 110	
35	aac ttt ttt gct tgg tat tta tat ttt atg aag cgt tac tgg agt tgg	385
	Asn Phe Phe Ala Trp Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp	
	115 120 125	
40	tta caa att atc aca tta atg att att tat aac tta cta aaa tat ata	433
	Leu Gln Ile Ile Thr Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile	
	130 135 140	
	tgg cat ttt cca gag gat aat atg act tat ttt tgg gta gtt ccc tca	481
45	Trp His Phe Pro Glu Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser	
	145 150 155	
	att tta agt tct tta caa tta ttt tat ttt gga act ttt cta ccc cac	529
	Ile Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His	
50	160 165 170 175	

agt gag cct gta gaa ggt tat aaa gag cct cat cgt tcc caa act att 577
 Ser Glu Pro Val Glu Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile
 180 185 190

5 agc cgt ccc att tgg tgg tca ttt ata act tgt tac cat ttt ggt tat 625
 Ser Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr
 195 200 205

10 cat tac gaa cat cat gaa tac ccc cat gtt cct tgg tgg caa tta cca 673
 His Tyr Glu His His Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro
 210 215 220

15 gaa att tat aaa atg tct aaa tca aat ttg tgatctagag catgcgc 720
 Glu Ile Tyr Lys Met Ser Lys Ser Asn Leu
 225 230

20 <210> 77
 <211> 233
 <212> PRT

25 <213> Nodularia spumigena NSOR10

30 <400> 77
 Met His Leu Glu Met Ala Ile Ala Ile Ile Ser Ile Trp Ala Ile Ser
 1 5 10 15

35 Leu Gly Leu Leu Leu Tyr Ile Asp Ile Ser Gln Phe Lys Phe Trp Met
 20 25 30

40 Leu Leu Pro Leu Ile Phe Trp Gln Thr Phe Leu Tyr Thr Gly Leu Phe
 35 40 45

45 Ile Thr Ala His Asp Ala Met His Gly Val Val Phe Pro Lys Asn Pro
 50 55 60

Lys Ile Asn His Phe Ile Gly Ser Leu Cys Leu Phe Leu Tyr Gly Leu
 65 70 75 80

50

125

Leu Pro Tyr Gln Lys Leu Leu Lys Lys His Trp Leu His His His Asn
85 90 95

5 Pro Ala Ser Glu Thr Asp Pro Asp Phe His Asn Gly Lys Gln Lys Asn
100 105 110

10 Phe Phe Ala Trp Tyr Leu Tyr Phe Met Lys Arg Tyr Trp Ser Trp Leu
115 120 125

15 Gln Ile Ile Thr Leu Met Ile Ile Tyr Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Trp
130 135 140

His Phe Pro Glu Asp Asn Met Thr Tyr Phe Trp Val Val Pro Ser Ile
145 150 155 160

20 Leu Ser Ser Leu Gln Leu Phe Tyr Phe Gly Thr Phe Leu Pro His Ser
165 170 175

25 Glu Pro Val Glu Gly Tyr Lys Glu Pro His Arg Ser Gln Thr Ile Ser
180 185 190

30 Arg Pro Ile Trp Trp Ser Phe Ile Thr Cys Tyr His Phe Gly Tyr His
195 200 205

35 Tyr Glu His His Glu Tyr Pro His Val Pro Trp Trp Gln Leu Pro Glu
210 215 220

Ile Tyr Lys Met Ser Lys Ser Asn Leu
225 230

40 <210> 78

<211> 24

45 <212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

50

<220>

<221> Primer

5 <222> (1)..(24)

<223>

10

<400> 78
gaattcctgc aatagaatgt tgag

24

15 <210> 79

<211> 25

<212> DNA

20

<213> Künstliche Sequenz

25 <220>

<221> Primer

<222> (1)..(25)

30

<223>

35 <400> 79
ctcgagctta cgagcatttt ctaag

25

40 <210> 80

<211> 307

<212> DNA

45 <213> Vicia faba

<220>

50

<221> Terminator

<222> (1)..(307)

5 <223>

<400> 80

10 gaattcctgc aatagaatgt tgaggtgacc actttctgta ataaaataat tataaaataa 60

atttagaatt gctgtagtca agaacatcag ttctaaaata ttaataaagt tatggccttt 120

15 tgacatatgt gtttcgataa aaaaatcaaa ataaattgag atttattcga aatacaatga 180

aagtttgcag atatgagata tgtttctaca aaataataac ttaaaactca actatatgct 240

aatgtttttc ttggtgtgtt tcatagaaaa ttgtatccgt ttcttagaaa atgctcgtaa 300

20 gctcgag 307

<210> 81

25 <211> 26

<212> DNA

30 <213> Künstliche Sequenz

<220>

35 <221> Primer

<222> (1)..(26)

<223>

40

<400> 81

45 aagcttgaat ttggatccgc caccgt 26

<210> 82

<211> 25

50

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

5

<220>

<221> Primer

10

<222> (1) .. (25)

<223>

15

<400> 82

gaattcccaa taataatcta cagcc

25

20

<210> 83

<211> 1040

25

<212> DNA

<213> Lycopersicon esculentum

30

<220>

<221> CDS

35

<222> (29) .. (970)

<223>

40

<400> 83

aagcttgaat ttggatccgc caccgtcc atg gcg gcc gga att tca gcc tcc
Met Ala Ala Gly Ile Ser Ala Ser

52

1

5

45

gct agt tcc cga acc att cgc ctc cgt cat aac ccg ttt ctc agt cca
Ala Ser Ser Arg Thr Ile Arg Leu Arg His Asn Pro Phe Leu Ser Pro
10 15 20

100

50

aaa tcc gcc tca acc gcc ccg ccg gtt ctg ttc ttc tct ccg tta act

148

129

	Lys	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Pro	Pro	Val	Leu	Phe	Phe	Ser	Pro	Leu	Thr	
	25					30					35					40	
5	cgc	aat	ttt	ggc	gca	att	ttg	ctg	tct	aga	aga	aag	ccg	aga	ttg	gcg	196
	Arg	Asn	Phe	Gly	Ala	Ile	Leu	Leu	Ser	Arg	Arg	Lys	Pro	Arg	Leu	Ala	
				45						50					55		
10	ggt	tgt	ttt	gtg	ctg	gag	aat	gag	aaa	ttg	aat	agt	act	atc	gaa	agt	244
	Val	Cys	Phe	Val	Leu	Glu	Asn	Glu	Lys	Leu	Asn	Ser	Thr	Ile	Glu	Ser	
				60						65					70		
15	gag	agt	gaa	gta	ata	gag	gat	cgg	ata	caa	gta	gag	att	aat	gag	gag	292
	Glu	Ser	Glu	Val	Ile	Glu	Asp	Arg	Ile	Gln	Val	Glu	Ile	Asn	Glu	Glu	
				75						80					85		
20	aag	agt	tta	gct	gcc	agt	tgg	ctg	gcg	gag	aaa	ttg	gcg	agg	aag	aaa	340
	Lys	Ser	Leu	Ala	Ala	Ser	Trp	Leu	Ala	Glu	Lys	Leu	Ala	Arg	Lys	Lys	
				90						95					100		
25	tcg	gag	agg	ttt	act	tat	ctt	gtg	gca	gct	gtg	atg	tct	agt	ttg	ggg	388
	Ser	Glu	Arg	Phe	Thr	Tyr	Leu	Val	Ala	Ala	Val	Met	Ser	Ser	Leu	Gly	
	105					110					115					120	
30	att	act	tct	atg	gcg	att	ttg	gcg	gtt	tat	tac	aga	ttt	tca	tgg	caa	436
	Ile	Thr	Ser	Met	Ala	Ile	Leu	Ala	Val	Tyr	Tyr	Arg	Phe	Ser	Trp	Gln	
					125					130					135		
35	atg	gag	ggg	gga	gaa	gtg	cct	ttt	tct	gaa	atg	tta	gct	aca	ttc	act	484
	Met	Glu	Gly	Gly	Glu	Val	Pro	Phe	Ser	Glu	Met	Leu	Ala	Thr	Phe	Thr	
				140						145					150		
40	ctc	tcg	ttt	ggc	gct	gcc	gta	gga	atg	gag	tac	tgg	gcg	aga	tgg	gct	532
	Leu	Ser	Phe	Gly	Ala	Ala	Val	Gly	Met	Glu	Tyr	Trp	Ala	Arg	Trp	Ala	
				155						160					165		
45	cat	aga	gca	cta	tgg	cat	gct	tct	tta	tgg	cac	atg	cac	gag	tcg	cac	580
	His	Arg	Ala	Leu	Trp	His	Ala	Ser	Leu	Trp	His	Met	His	Glu	Ser	His	
				170						175					180		
50	cat	aga	cca	aga	gaa	gga	cct	ttt	gag	atg	aac	gac	gtt	ttc	gcc	ata	628
	His	Arg	Pro	Arg	Glu	Gly	Pro	Phe	Glu	Met	Asn	Asp	Val	Phe	Ala	Ile	
	185					190					195				200		
55	aca	aat	gct	gtt	cca	gct	ata	ggg	ctt	ctt	tcc	tac	ggg	ttc	ttc	cat	676
	Thr	Asn	Ala	Val	Pro	Ala	Ile	Gly	Leu	Leu	Ser	Tyr	Gly	Phe	Phe	His	
					205					210					215		
60	aaa	ggg	atc	gtc	cct	ggc	ctc	tgt	ttc	ggc	gct	gga	ttg	ggg	atc	aca	724
	Lys	Gly	Ile	Val	Pro	Gly	Leu	Cys	Phe	Gly	Ala	Gly	Leu	Gly	Ile	Thr	
				220						225					230		

gta ttt ggg atg gct tac atg ttc gtt cac gat gga ctg gtt cat aag 772
 Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe Val His Asp Gly Leu Val His Lys
 235 240 245
 5 aga ttt ccc gta ggg cct att gcc aac gtg cct tac ttt cgg agg gta 820
 Arg Phe Pro Val Gly Pro Ile Ala Asn Val Pro Tyr Phe Arg Arg Val
 250 255 260
 10 gct gca gca cat cag ctt cat cac tcg gac aaa ttt gat ggt gtc cca 868
 Ala Ala Ala His Gln Leu His His Ser Asp Lys Phe Asp Gly Val Pro
 265 270 275 280
 15 tat ggc ttg ttt cta gga cct aag gaa ttg gaa gaa gta gga gga ctt 916
 Tyr Gly Leu Phe Leu Gly Pro Lys Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Leu
 285 290 295
 20 gaa gag tta gaa aag gaa gtc aac cga agg att aaa att tct aag gga 964
 Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Asn Arg Arg Ile Lys Ile Ser Lys Gly
 300 305 310
 tta tta tgatcaaaag atacgtctga taataataaa atgcgattgt atttaggctg 1020
 Leu Leu
 25 tagattatta ttgggaattc 1040
 30 <210> 84
 <211> 314
 <212> PRT
 35 <213> Lycopersicon esculentum
 40 <400> 84
 Met Ala Ala Gly Ile Ser Ala Ser Ala Ser Ser Arg Thr Ile Arg Leu
 1 5 10 15
 45 Arg His Asn Pro Phe Leu Ser Pro Lys Ser Ala Ser Thr Ala Pro Pro
 20 25 30
 50 Val Leu Phe Phe Ser Pro Leu Thr Arg Asn Phe Gly Ala Ile Leu Leu
 35 40 45

Ser Arg Arg Lys Pro Arg Leu Ala Val Cys Phe Val Leu Glu Asn Glu
 50 55 60
 5

Lys Leu Asn Ser Thr Ile Glu Ser Glu Ser Glu Val Ile Glu Asp Arg
 65 70 75 80

10

Ile Gln Val Glu Ile Asn Glu Glu Lys Ser Leu Ala Ala Ser Trp Leu
 85 90 95

15

Ala Glu Lys Leu Ala Arg Lys Lys Ser Glu Arg Phe Thr Tyr Leu Val
 100 105 110

20

Ala Ala Val Met Ser Ser Leu Gly Ile Thr Ser Met Ala Ile Leu Ala
 115 120 125

Val Tyr Tyr Arg Phe Ser Trp Gln Met Glu Gly Gly Glu Val Pro Phe
 130 135 140

25

Ser Glu Met Leu Ala Thr Phe Thr Leu Ser Phe Gly Ala Ala Val Gly
 145 150 155 160

30

Met Glu Tyr Trp Ala Arg Trp Ala His Arg Ala Leu Trp His Ala Ser
 165 170 175

35

Leu Trp His Met His Glu Ser His His Arg Pro Arg Glu Gly Pro Phe
 180 185 190

40

Glu Met Asn Asp Val Phe Ala Ile Thr Asn Ala Val Pro Ala Ile Gly
 195 200 205

Leu Leu Ser Tyr Gly Phe Phe His Lys Gly Ile Val Pro Gly Leu Cys
 210 215 220

45

Phe Gly Ala Gly Leu Gly Ile Thr Val Phe Gly Met Ala Tyr Met Phe
 225 230 235 240

50

132

Val His Asp Gly Leu Val His Lys Arg Phe Pro Val Gly Pro Ile Ala
245 250 255

5 Asn Val Pro Tyr Phe Arg Arg Val Ala Ala Ala His Gln Leu His His
260 265 270

10 Ser Asp Lys Phe Asp Gly Val Pro Tyr Gly Leu Phe Leu Gly Pro Lys
275 280 285

15 Glu Leu Glu Glu Val Gly Gly Leu Glu Glu Leu Glu Lys Glu Val Asn
290 295 300

Arg Arg Ile Lys Ile Ser Lys Gly Leu Leu
305 310

20

<210> 85

<211> 34

25

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

30

<220>

<221> Primer

35

<222> (1)..(34)

<223>

40

<400> 85

ccatggaagc tcttctcaag ccttttccat ctct

34

45

<210> 86

<211> 34

<212> DNA

50

<213> Künstliche Sequenz

5 <220>

<221> Primer

<222> (1)..(34)

10

<223>

15 <400> 86

ggatcctcaa aggctctcta ttgctagatt gcca

34

<210> 87

20

<211> 1505

<212> DNA

25 <213> Lycopersicon esculentum

<220>

30

<221> .CDS

<222> (3)..(1505)

35 <223>

<400> 87

40

cc atg gaa gct ctt ctc aag cct ttt cca tct ctt tta ctt tcc tct
 Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser
 1 5 10 15

47

cct aca ccc cat agg tct att ttc caa caa aat ccc tct ttt cta agt
 Pro Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser
 20 25 30

95

ccc acc acc aaa aaa aaa tca aga aaa tgt ctt ctt aga aac aaa agt
 Pro Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser
 35 40 45

143

50

	agc aaa ctt ttt tgt agc ttt ctt gat tta gca ccc aca tca aag cca	191
	Ser Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro	
	50 55 60	
5		
	gag tct tta gat gtt aac atc tca tgg gtt gat cct aat tcg aat cgg	239
	Glu Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg	
	65 70 75	
10		
	gct caa ttc gac gtg atc att atc gga gct ggc cct gct ggg ctc agg	287
	Ala Gln Phe Asp Val Ile Ile Ile Gly Ala Gly Pro Ala Gly Leu Arg	
	80 85 90 95	
15		
	cta gct gaa caa gtt tct aaa tat ggt att aag gta tgt tgt gtt gac	335
	Leu Ala Glu Gln Val Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Val Cys Cys Val Asp	
	100 105 110	
20		
	cct tca cca ctc tcc atg tgg cca aat aat tat ggt gtt tgg gtt gat	383
	Pro Ser Pro Leu Ser Met Trp Pro Asn Asn Tyr Gly Val Trp Val Asp	
	115 120 125	
25		
	gag ttt gag aat tta gga ctg gaa aat tgt tta gat cat aaa tgg cct	431
	Glu Phe Glu Asn Leu Gly Leu Glu Asn Cys Leu Asp His Lys Trp Pro	
	130 135 140	
30		
	atg act tgt gtg cat ata aat gat aac aaa act aag tat ttg gga aga	479
	Met Thr Cys Val His Ile Asn Asp Asn Lys Thr Lys Tyr Leu Gly Arg	
	145 150 155	
35		
	cca tat ggt aga gtt agt aga aag aag ctg aag ttg aaa ttg ttg aat	527
	Pro Tyr Gly Arg Val Ser Arg Lys Lys Leu Lys Leu Lys Leu Leu Asn	
	160 165 170 175	
40		
	agt tgt gtt gag aac aga gtg aag ttt tat aaa gct aag gtt tgg aaa	575
	Ser Cys Val Glu Asn Arg Val Lys Phe Tyr Lys Ala Lys Val Trp Lys	
	180 185 190	
45		
	gtg gaa cat gaa gaa ttt gag tct tca att gtt tgt gat gat ggt aag	623
	Val Glu His Glu Glu Phe Glu Ser Ser Ile Val Cys Asp Asp Gly Lys	
	195 200 205	
50		
	aag ata aga ggt agt ttg gtt gtg gat gca agt ggt ttt gct agt gat	671
	Lys Ile Arg Gly Ser Leu Val Val Asp Ala Ser Gly Phe Ala Ser Asp	
	210 215 220	
55		
	ttt ata gag tat gac agg cca aga aac cat ggt tat caa att gct cat	719
	Phe Ile Glu Tyr Asp Arg Pro Arg Asn His Gly Tyr Gln Ile Ala His	
	225 230 235	
60		
	ggg gtt tta gta gaa gtt gat aat cat cca ttt gat ttg gat aaa atg	767

ggg ttc ctt tct tca aga ttg tct gtc aaa gaa ctt ggt tta ctc agc 1391
 Gly Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser
 450 455 460

5 ttg tgt ctt ttc gga cat ggc tca aac atg act agg ttg gat att gtt 1439
 Leu Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val
 465 470 475

10 aca aaa tgt cct ctt cct ttg gtt aga ctg att ggc aat cta gca ata 1487
 Thr Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile
 480 485 490 495

15 gag agc ctt tga gga tcc 1505
 Glu Ser Leu Gly Ser
 500

20 <210> 88
 <211> 498
 <212> PRT

25 <213> Lycopersicon esculentum

30 <400> 88
 Met Glu Ala Leu Leu Lys Pro Phe Pro Ser Leu Leu Leu Ser Ser Pro
 1 5 10 15

35 Thr Pro His Arg Ser Ile Phe Gln Gln Asn Pro Ser Phe Leu Ser Pro
 20 25 30

40 Thr Thr Lys Lys Lys Ser Arg Lys Cys Leu Leu Arg Asn Lys Ser Ser
 35 40 45

45 Lys Leu Phe Cys Ser Phe Leu Asp Leu Ala Pro Thr Ser Lys Pro Glu
 50 55 60

Ser Leu Asp Val Asn Ile Ser Trp Val Asp Pro Asn Ser Asn Arg Ala
 65 70 75 80

137

	Gln	Phe	Asp	Val	Ile	Ile	Ile	Gly	Ala	Gly	Pro	Ala	Gly	Leu	Arg	Leu
					85					90					95	
5	Ala	Glu	Gln	Val	Ser	Lys	Tyr	Gly	Ile	Lys	Val	Cys	Cys	Val	Asp	Pro
				100					105					110		
10	Ser	Pro	Leu	Ser	Met	Trp	Pro	Asn	Asn	Tyr	Gly	Val	Trp	Val	Asp	Glu
				115				120					125			
15	Phe	Glu	Asn	Leu	Gly	Leu	Glu	Asn	Cys	Leu	Asp	His	Lys	Trp	Pro	Met
		130					135					140				
20	Thr	Cys	Val	His	Ile	Asn	Asp	Asn	Lys	Thr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Arg	Pro
	145					150					155				160	
25	Tyr	Gly	Arg	Val	Ser	Arg	Lys	Lys	Leu	Lys	Leu	Lys	Leu	Leu	Asn	Ser
					165				170						175	
30	Cys	Val	Glu	Asn	Arg	Val	Lys	Phe	Tyr	Lys	Ala	Lys	Val	Trp	Lys	Val
				180					185					190		
35	Glu	His	Glu	Glu	Phe	Glu	Ser	Ser	Ile	Val	Cys	Asp	Asp	Gly	Lys	Lys
		195						200					205			
40	Ile	Arg	Gly	Ser	Leu	Val	Val	Asp	Ala	Ser	Gly	Phe	Ala	Ser	Asp	Phe
		210					215					220				
45	Ile	Glu	Tyr	Asp	Arg	Pro	Arg	Asn	His	Gly	Tyr	Gln	Ile	Ala	His	Gly
	225					230				235					240	
50	Val	Leu	Val	Glu	Val	Asp	Asn	His	Pro	Phe	Asp	Leu	Asp	Lys	Met	Val
					245				250					255		
55	Leu	Met	Asp	Trp	Arg	Asp	Ser	His	Leu	Gly	Asn	Glu	Pro	Tyr	Leu	Arg
				260					265					270		
60	Val	Asn	Asn	Ala	Lys	Glu	Pro	Thr	Phe	Leu	Tyr	Ala	Met	Pro	Phe	Asp
		275						280					285			

Arg Asp Leu Val Phe Leu Glu Glu Thr Ser Leu Val Ser Arg Pro Val
 290 295 300
 5

Leu Ser Tyr Met Glu Val Lys Arg Arg Met Val Ala Arg Leu Arg His
 305 310 315 320
 10

Leu Gly Ile Lys Val Lys Ser Val Ile Glu Glu Glu Lys Cys Val Ile
 325 330 335
 15

Pro Met Gly Gly Pro Leu Pro Arg Ile Pro Gln Asn Val Met Ala Ile
 340 345 350
 20

Gly Gly Asn Ser Gly Ile Val His Pro Ser Thr Gly Tyr Met Val Ala
 355 360 365
 25

Arg Ser Met Ala Leu Ala Pro Val Leu Ala Glu Ala Ile Val Glu Gly
 370 375 380
 30

Leu Gly Ser Thr Arg Met Ile Arg Gly Ser Gln Leu Tyr His Arg Val
 385 390 395 400
 35

Trp Asn Gly Leu Trp Pro Leu Asp Arg Arg Cys Val Arg Glu Cys Tyr
 405 410 415
 40

Ser Phe Gly Met Glu Thr Leu Leu Lys Leu Asp Leu Lys Gly Thr Arg
 420 425 430
 45

Arg Leu Phe Asp Ala Phe Phe Asp Leu Asp Pro Lys Tyr Trp Gln Gly
 435 440 445
 50

Phe Leu Ser Ser Arg Leu Ser Val Lys Glu Leu Gly Leu Leu Ser Leu
 450 455 460
 50

Cys Leu Phe Gly His Gly Ser Asn Met Thr Arg Leu Asp Ile Val Thr
 465 470 475 480

Lys Cys Pro Leu Pro Leu Val Arg Leu Ile Gly Asn Leu Ala Ile Glu
485 490 495

5 Ser Leu

10 <210> 89

<211> 37

<212> DNA

15 <213> Künstliche Sequenz

20 <220>

<221> Primer

<222> (1)..(37)

25 <223>

30 <400> 89
gagctcgata tctttgccag tattacaaca gcttata

37

<210> 90

35 <211> 31

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

40

<220>

45 <221> Primer

<222> (1)..(31)

<223>

50

<400> 90 31
 cccgggttta ctgaaaaata acagtaaaac c
 5
 <210> 91
 <211> 2096
 10 <212> DNA
 <213> Lycopersicon esculentum
 15
 <220>
 <221> Promotor
 20 <222> (1) .. (2096)
 <223>
 25
 <400> 91
 gagctcgata tctttgccag tattacaaca gcttatatgt tgagcaggta aaagcttcaa 60
 30 tgccctattc tttctacagt tatcaatggt gctcgtctaa tatctgggtg tcttctcgaa 120
 atgtcaattg gcttgcagca cattgtcctc taatatccat tcaagcttct tagatgatga 180
 aacatttgtc aaatttatta atttcatagt gttcagtctc aattcttttag ctgtttcctc 240
 35 atagtaaagt tgtctaatat gaaatgaaaa tgttctgtgt gttgtactaa taccttttca 300
 tggttgtcta tagaacgtcg atgaagagcc aaacagaaac tattttgggc tgcgatttct 360
 40 gataccattg tatctgaatg ctgggtggga gctcatcaga agctttacaa tgggtcacat 420
 atatggagcc gagtatgagg aatgctggga atcagttgtg cttcgcgtgc taggactttt 480
 ccttcctggt atttctgccc acagcccagt tgattacgtg aactccgtca gacttggaaa 540
 45 ggagagaagt acccaaagt cgtcttttta gaaatacttt tgtcacaaaa tagcgggggt 600
 tacagctaca gaagatcatg cagaaggcgt ccagtttagt ttttgaaggt tgtttggagt 660
 50 ttatttatct aaagtaaact taaatcagct ttttgtttat gagttcagtg aactatatgt 720

	tcaaataaga cttccctttg tagaatatgt gttttttttt gttgttgagc acttttgttg	780
5	cattggataa accccaacg tgtaatagct accatacaag agaagtaact cgcactgtcc	840
	atgtcttatg tggctcgact cagaaagcat tcagggggat tgataaccac cctccaaacc	900
	aactgaacca ttgtgaataa ccacccttca aatcaaccga gtcctcgtga aggacaaata	960
10	tgtggtttta tatacattaa attttgtttt tacatgcttc ctcttacttc tttagttttc	1020
	ttgaccatat cttctttttc cttctgttaa ttgacatttt cttcaaacca tccagcaatg	1080
	tggaagcttg acgattttcc ttcagagtag aaattgaaaa gaatcaacta aaaaggatag	1140
15	tccttcgatt tgatttcggt cttaaaaata aactaataag aatgagagag cgaataatag	1200
	aatattttga aattttaaag atattcaact atgttaaatt gcgttataaa tttcttaa	1260
20	tagtagcacc taatagttaa gttctcaaaa gtcaaaacta ctacataatg tgctcatttt	1320
	tcacattaaa atgcctacat gatgtaaaag taaaactcgt agcattctac gtgttttact	1380
	caactcaaac atcctgttca ttttaataaa cgtacgatga gcttctctct ccaattttct	1440
25	tttctttttt ttttttaaaa aaatattttt ttttatatca atccaaatgg gctccaattt	1500
	atcataaatt aggtagaaac ttagatatta aagaaagaaa aggggtttatc tcgcaagtgt	1560
30	ggctatggtg ggacgtgtca aattttggat tgtagccaaa catgagattt gatttaaagg	1620
	gaattggcca aatcaccgaa agcaggcatc ttcatacataa attagtttgt ttattttatac	1680
	agaattatac gcttttacta gttatagcat tcggatatct tttctgggta actgccaaac	1740
35	caccacaaat ttcaagtttc catttaactc ttcaacttca acccaaccaa atttatttgc	1800
	ttaattgtgc agaaccactc cctatatctt ctaggtgctt tcattcgttc cgaggtaaga	1860
40	aaagattttt gtttcttga atgctttatg ccactcgttt aacttctgag gtttgtggat	1920
	cttttaggcg actttttttt tttttgtatg taaaatttgt ttcataaatg cttctcaaca	1980
	taaatcttga caaagagaag gaattttacc aagtatttag gttcagaaat ggataatttt	2040
45	cttactgtga aatatcctta tggcagggtt tactgttatt tttcagtaaa cccggg	2096

<210> 92

<211> 25

<212> DNA

5 <213> Künstliche Sequenz

<220>

10

<221> Primer

<222> (1)..(25)

15 <223>

<400> 92

20 taagcttttt gttgaagaga tttgg

25

<210> 93

25 <211> 24

<212> DNA

30 <213> Künstliche Sequenz

<220>

35 <221> Primer

<222> (1)..(24)

<223>

40

<400> 93

45 gaattcctgc aatagaatgt tgag

24

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP04/008624

International filing date: 31 July 2004 (31.07.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: EP
Number: PCT/EP/03/09107
Filing date: 18 August 2003 (18.08.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 24 January 2005 (24.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.